M570 E 11.8.NF.1 (1/2)

Nikon

Microscopio Diritto

ECLIPSE

Ni-U

Manuale di Istruzioni

Funzionamento

Introduzione

Grazie per aver acquistato un prodotto Nikon.

Questo manuale di istruzioni è stato scritto per gli utilizzatori del microscopio Nikon ECLIPSE Ni-U. Per un corretto uso, prima di usare questo prodotto, si prega di leggere attentamente questo manuale.

- Questo manuale non può essere riprodotto o trasmesso in qualsiasi forma, senza un'espressa autorizzazione scritta di Nikon.
- Le informazioni contenute in questo manuale sono soggette a cambiamenti senza preavviso.
- L'apparecchio descritto in questo manuale può differire nel suo aspetto, da un prodotto reale.
- Sebbene sia stato fatto ogni sforzo per assicurare l'accuratezza di questo manuale, possono permanere errori o incoerenze; se si dovessero trovare punti non chiari o non corretti, si prega di contattate il rappresentante Nikon più vicino.
- Alcuni degli apparecchi descritti in questo manuale potrebbero non essere contenuti nel set che avete acquistato.
- Se si intende usare qualche altro apparecchio con questo prodotto, leggere anche il manuale di tale apparecchio
- Se questa apparecchiatura è usato in un modo non specificato dal produttore, la protezione fornita dall'apparecchiatura può risultare compromessa.
- Addestramento: questo prodotto può essere utilizzato senza uno speciale addestramento purché venga letto completamente questo manuale prima dell'uso. Gentilmente contattare il più vicino rappresentante Nikon se avete delle domande da porre, se trovate degli errori o desiderate manifestare la vostra opinione.

Contenuto del manuale

Il manuale di istruzione dell' ECLIPSE Ni-E viene fornito in due volumi.

- **Funzionamento (questo manuale)**
  - Precauzioni per la sicurezza
  - Componenti
  - Operazioni manuali di microscopia
    - Diagramma di flusso delle operazioni
    - Microscopia in campo chiaro/scuro
    - Microscopia in Epi-fluorescenza
    - Microscopia a Contrasto di Interferenza Differenziale
    - Microscopia a Contrasto di Fase
    - Microscopia motorizzata in campo chiaro
    - Microscopia motorizzata in epi-fluorescenza
  - Operazioni particolari

- **Montaggio/Manutenzione**
  - Montaggio
  - Problemi e soluzioni
  - Manutenzione e Magazzinaggio
  - Specifiche

Prima di leggere il manuale "Montaggio/Manutenzione" leggere il paragrafo "Precauzioni per la sicurezza" nel manuale di "Funzionamento".

Simboli usati in questo manuale

In questo manuale sono usati i seguenti simboli:

- **Simboli per la sicurezza**

AVVERTENZA **ATTENZIONE**	Evidenziano informazioni importanti che devono essere notate per la sicurezza. Per i dettagli leggere "Precauzioni per la sicurezza"

- **Altri simboli**

	Indica informazioni che devono essere notate o a cui occorre attenersi per evitare difetti o malfunzionamenti del prodotto

	Indica informazioni che devono essere conosciute da chi usa il prodotto o altre informazioni utili.

Indice

1 COMPONENTI 1

2 OPERAZIONI DI MICROSCOPIA 11

3 OPERAZIONI PARTICOLARI 87

Indice di dettaglio

Introduzione ..... **v**
Contenuto del manuale vii
Simboli usati in questo manuale vii

Indice di dettaglio ..... **xi**

Precauzioni per la sicurezza ..... **xiv**
Simboli di AVVISO e di PRECAUZIONE usati in questo manuale xiv
Significato dei simboli usati sul prodotto xiv

Note sul maneggio del prodotto ..... **xvi**

1 COMPONENTI 1

1 Configurazione di sistema e comandi per la microscopia in campo chiaro/scuro **2**
1.1 Componenti 2
1.2 Comandi 3

2 Configurazione di sistema e comandi per la microscopia in Epi-fluorescenza **4**

3 Configurazione di sistema e comandi per la microscopia a interferenza differenziale **6**

4 Configurazione di sistema e comandi per la microscopia a contrasto di fase **7**

5 Configurazione di sistema e comandi per la microscopia motorizzata in campo chiaro **8**
5.1 Componenti 8
5.2 Comandi 9
5.3 Bottoni della tastiera Simple Remote Control 10
5.4 Connettori della Control Box B 10

6 Configurazione di sistema e comandi per Epi-fluorescenza motorizzata **11**

2 OPERAZIONI DI MICROSCOPIA 13

1 Diagramma di flusso delle operazioni **14**

2 Microscopia in campo chiaro/scuro **20**

3 Microscopia in epi-fluorescenza **29**

4 Microscopia a contrasto di interferenza differenziale **42**

5 Microscopia a contrasto di fase **55**

6 Microscopia in campo chiaro motorizzata **65**

7 Microscopia in epifluorescenza motorizzata **76**

3 OPERAZIONI DI DETTAGLIO 87

1 Regolazione della luminosità di un'immagine diascopica **88**
1.1 Regolazione tramite il voltaggio della lampada 88

1.2 Regolazione tramite i filtri ND 89

2 Messa a fuoco del campione (Movimento verticale dello stadio) 90
2.1 Corretta procedura di messa a fuoco 90
2.2 Manopole di messa a fuoco sul corpo principale 91
2.3 Rifuocamento 92

3 Portare il particolare di interesse nel percorso ottico (Movimento orizzontale del tavolino, Rotazione) 93

4 Regolazione diottrica 95

5 Messa a fuoco e centramento del condensatore 96

6 Aggiustamento del diaframma di apertura 97

7 Condensatore 99
7.1 Operazioni sul condensatore universale 99
7.2 Operazioni su altri condensatori manuali 99

8 Aggiustamento del diaframma di campo 101

9 Commutazione dell'obbiettivo 102
9.1 Azionamento del portaobbiettivi manuale/intelligente 102
9.2 Azionamento del portaobbiettivi motorizzato 102

10 Commutazione del percorso ottico del tubo 104

11 Aggiustamento della sezione binoculare 105
11.1 Aggiustamento con la sezione binoculare del tubo 105
11.2 Uso dell'innalzatore livello occhi 105

12 Immersione in olio / immersione in acqua 106

13 Microscopia in campo scuro 108

14 Microscopia in epi fluorescenza 109
14.1 Funzionamento della torretta cubo epifluorescenza (Switching Excitation Method) 109
14.2 Selezione filtri 111
14.3 Protezione del campione e prevenzione della decolorazione (Usando l'otturatore) 113
14.4 Regolazione della luminosità dell'immagine fluorescente (Usando i filtri ND e l'apertura) 114
14.5 Restringimento dell'illuminazione all'area del campione che deve essere osservata (Centramento e aggiustamento del diaframma di campo) 116
14.6 Cambio delle caratteristiche della forma d'onda della luce di eccitazione (D-FB Excitation Balancer) 117
14.7 Altre considerazioni sulla microscopia in epi fluorescenza 118

15 Microscopia a contrasto di interferenza differenziale 119
15.1 Suggerimenti per la microscopia a contrasto di interferenza differenziale 119
15.2 Uso degli elementi ottici 120
15.3 Uso del condensatore DIC D-CUO 121

16 Microscopia a contrasto di fase 122
16.1 Suggerimenti per la microscopia a contrasto di fase 122
16.2 Uso degli elementi ottici 123

16.3 Uso del C-C Phase Turret Condenser 123

17 Funzioni utili (funzione MODE) 125

18 Cattura delle immagini 126

19 Operazioni con la DS-L3 130

19.1 Impostazione del microscopio 130

19.2 Controllo del microscopio 138

Precauzioni per la sicurezza

Per assicurare un funzionamento corretto e sicuro, leggere questo manuale prima di usare il prodotto.

Simboli di AVVISO e di PRECAUZIONE usati in questo manuale

Sebbene questo prodotto sia progettato per garantire la totale sicurezza durante l'utilizzo, un uso non corretto o l'inosservanza delle istruzioni, potrebbero causare danni a cose e persone. Per la vostra sicurezza leggete attentamente il manuale prima di utilizzare lo strumento. Non abbandonate il manuale ma tenetelo sempre insieme allo strumento per una facile consultazione.
In questo manuale sono indicate le condizioni di sicurezza con i seguenti simboli. Seguire le istruzioni contrassegnate da questi simboli per la vostra sicurezza.

Simbolo		Descrizione
	AVVISO	L'inosservanza delle istruzioni contrassegnate con questo simbolo può causare la morte o gravi ferite.
	PRECAUZIONE	L'inosservanza delle istruzioni contrassegnate con questo simbolo può causare danni a cose o persone

Significato dei simboli usati sul prodotto

Quando appaiono sul prodotto, i simboli sottostanti, indicano la necessità di prestare sempre attenzione durante l'uso dello strumento. Prima di usare o riparare qualsiasi parte sulla quale sia stato affisso il simbolo, consultare il manuale di istruzione e leggere le istruzioni relative.

	Attenzione! Rischio biologico Questo simbolo si trova sul frontale di questo prodotto ed è per richiamare l'attenzione a quanto segue: ATTENZIONE: l'uso di questo prodotto può costituire un rischio biologico se il campione viene a contatto con questo prodotto. • Onde evitare rischi di contaminazione biologica, evitare di toccare le parti contaminate con le mani nude. • Decontaminare le parti contaminate secondo le procedure standard specificate per il vostro laboratorio.
	Attenzione al calore Questo simbolo, si trova sul portalampada e sul lato superiore dell'unità principale per richiamare l'attenzione a quanto segue: **Portalampada** La lampada e le aree intorno ad essa (incluso il portalampada) divengono molto calde durante e immediatamente dopo un periodo di illuminazione. Rischio di ustioni. Non toccare la lampada o le aree intorno ad essa durante o immediatamente dopo un periodo di illuminazione. Assicurarsi che la lampada e le zone circostanti ad essa siano sufficientemente raffreddate prima di procedere alla sostituzione della lampada.
	Precauzioni contro il calore Questo simbolo è posto sulla parte superiore del braccio (sia quello standard che a contatto) ma "Precauzioni contro il calore" non sono richieste se si usa in combinazione col Microscopio Ni-E.

AVVERTENZE

1. **Non smontare**
   Lo smontaggio può causare malfunzionamenti e/o shock elettrico Malfunzionamenti e danni dovuti allo smontaggio non sono coperti da garanzia. Non smontare nessun'altra parte al di fuori di quelle descritte in questo manuale. Per qualsiasi problema che si manifesta con questo prodotto contattare il più vicino rappresentante Nikon.

2. **Leggere attentamente il manuale d'istruzione.**
   Per la sicurezza, leggere completamente questo manuale e il manuale fornito con qualunque altro apparato usato con questo prodotto. In particolare osservare tutte gli avvisi e i richiami di attenzione forniti all'inizio di ogni manuale
   La sicurezza è posta come richiesta prioritaria nel design dei prodotti Nikon. Essa è garantita se l'utente osserva tutte le avvertenze e le precauzioni richiamate nei manuali e usa il sistema solo per lo scopo a cui è destinato. Comunque, la non osservanza delle avvertenze e precauzioni richiamate nei manuali, sottopone il sistema a shock o urti oppure effettuare tentativi di smontaggio può portare a incidenti imprevisti e a lesioni.
   Prodotto con dispositivo NI-FLEI per epifluorescenza:
   La sorgente luminosa usata per la microscopia in Epi-fluorescenza (illuminatore a Fibra Precentrata HG), richiede una particolare cura durante il vaneggiamento a causa delle sue caratteristiche. Assicuratevi di aver letto il manuale d'istruzione relativo alla sorgente di illuminazione che si sta utilizzando.

3. **Note sul cavo di alimentazione**
   Assicurarsi di utilizzare il cavo di alimentazione specificato. L'uso di cavi di alimentazione non adeguati può provocare incendi o altri danni. Il prodotto è classificato con protezione in Classe I contro lo shock elettrico. Assicurarsi che sia connesso ad un appropriato terminale di terra. Riferirsi al Capitolo 4 "2 Proprietà delle prestazioni" del manuale "Montaggio/Manutenzione" per i dettagli sul cavo di alimentazione specificato.
   - Per prevenire shock elettrici, spengere sempre l'interruttore generale (portandolo in posizione "O") del prodotto prima di attaccare o staccare il cavo di alimentazione.

4. **Calore dall'illuminatore**
   La lampada e le aree circostanti (incluso il portalampada) sono molto calde durante e immediatamente dopo un periodo di illuminazione.
   - Non toccare mai la lampada o le aree circostanti durante o immediatamente dopo un periodo di illuminazione. Toccando tali aree c'è il rischio di ustionarsi.
   - Montare sempre la copertura del portalampada quando si usa questo prodotto
   - Assicurarsi che la lampada e le aree circostanti siano raffreddate sufficientemente (aspettare circa 30 minuti) prima di tentare di sostituire la lampada.
   - Per evitare rischi d'incendio, non mettere tessuti, carta o materiali volatili infiammabili come benzina, benzina rettificata, dilunenti per vernici o alcol vicino al portalampada quando la lampada è accesa o durante un periodo di circa 30 minuti dopo che la lampada è stata spenta.

5. **Calore dal corpo principale e dal braccio**
   Il corpo principale ha un alimentatore incorporato da 100W che fa sì che la piastra metallica della parte superiore divenga molto calda. La parte calda risulta esposta quando si rimuove il braccio.
   Quando si sostituisce il braccio, spengere l'interruttore principale e aspettare almeno 30 minuti in modo tale che il corpo principale sia sufficientemente raffreddato.
   Evitare di toccare la superficie superiore durante l'uso.

6. **Rischi connessi con l'uso di lampade al mercurio (quando si usa il dispositivo per Epi-fluorescenza)**

   La sorgente luminosa usata sol dispositivo per epi-fluorescenza (Illuminatore a Fibra Precentrata HG) richiede una speciale attenzione per il vaneggiamento a causa delle sue caratteristiche. Per la sicurezza e un corretto uso di questo sistema, leggere attentamente le avvertenze riportate di seguito. Tenere presenti tutti i possibili rischi. Inoltre, leggere con attenzione il manuale dell'illuminatore e il manuale del produttore della lampada (se fornito), quindi seguire le istruzioni date nel seguito. La non osservanza degli avvertimenti e delle precauzioni date nei manuali, sottoporre il sistema a shock o urti oppure effettuare tentativi di smontaggio può portare a incidenti imprevisti e a lesioni.

   - **Luce ultravioletta**

     Quando è accesa, la lampada al mercurio irradia luce ultravioletta che può danneggiare gli occhi e la pelle. La visione diretta della luce può provocare cecità. Quando si cambiano i cubi filtro spengere sempre la sorgente luminosa del dispositivo per Epi-fluorescenza. Lasciando la lampada accesa durante il cambio del cubo filtro può provocare un'esposizione ai raggi ultravioletti. Lasciare lo slider D/UV, dello slider D-ES EPI ND, nel percorso ottico. Rimuovendo la slider D/UV dal percorso ottico può causare un inizio di esposizione degli occhi alla luce ultravioletta.

   - **Gas ad alta pressione**

     Le lampade contengono gas sotto altissima pressione, pressione che aumenta quando la lampada è accesa. Se la lampada viene graffiata, sporcata o soggetta ad alta pressione esterna o impatto fisico o usata oltre la sua vita di servizio, il gas a pressione può fuoriuscire oppure la lampada può bruciare, provocando inalazioni di gas, ferite da vetro o altre incidenti.

   - **Calore**

     Quando la lampada è accesa, la lampada stessa e le aree circostanti divengono estremamente calde. Non toccare la lampada con le mani nude o mettere vicino alla lampada materiali infiammabili. Non seguendo queste avvertenze può provocare ustioni e incendio.

   - **Lampada specificata**

     Assicurarsi di usare la lampada specificata. L'uso di altri tipi di lampade può provocare incidenti e la bruciatura della lampada.

7. **Rischi connessi al maneggio del campione**

   Questo prodotto e destinato principalmente alle osservazioni microscopiche e all'acquisizione di immagini di cellule e tessuti preparati su slide di vetro.

   Controllare se un campione può risultare pericoloso prima di maneggiarlo. Se il campione è pericoloso maneggiarlo secondo la procedura standard specificata nel vostro laboratorio. Se il campione è potenzialmente infetto, indossare guanti di gomma ed evitare il contatto diretto coi campioni. Se un tale campione viene sparso sul questo prodotto, la parte interessata deve essere decontaminata con procedure di sicurezza. Consultate il vostro responsabile della sicurezza o gli standard di sicurezza della vostra infrastruttura.

PRECAUZIONI

1. **Spengimento**

   Per evitare shock elettrico e/o malfunzionamenti spengere sempre lo strumento e i dispositivi periferici (premere l'interruttore verso la posizione "O") e staccare il cavo di alimentazione dalla presa della parete prima di montare questo prodotto, collegare o scollegare cavi, sostituire lampade o pulire il microscopio e gli obbiettivi.

2. **Precauzioni nella sostituzione della lampada**

   - Per evitare scottature, aspettare almeno 30 minuti dopo lo spengimento della lampada per consentire il suo raffreddamento. Per evitare shock elettrici o malfunzionamenti, non tentare mai di sostituire la lampada senza prima aver spento gl'interruttori di potenza del microscopio e dei dispositivi periferici (premendoli nella posizione "O") e staccato il cavo di alimentazione dalla presa.
   - Dopo la sostituzione della lampada, assicurarsi che il coperchio del portalampada sia montato saldamente al portalampada stesso. Non accendere mai la lampada mentre il coperchio del portalampada è aperto.
   - Non rompere le lampade usate; invece smaltirle come rifiuti industriali speciali o secondo quanto specificato dai regolamenti locali.

3. **Lampada specificata**

   L'alimentatore incorporato nel prodotto può alimentare lampade alogene fino a 12V – 100W. Usare sempre lampada e portalampada specificati. L'uso di prodotti non specificati può provocare malfunzionamenti.
   Lampada specificata: PHILIPS 7724 o OSRAM HLX64623
   Portalampada specificato: NI-LH Precentered Lamphouse

4. **Movimento dei dispositivi motorizzati**

   Questo prodotto può essere equipaggiato con dispositivi motorizzati come il portaobiettivi motorizzato e la torretta cubo epi-fluorescenza motorizzata che possono essere controllati da controllori remoti e PC.
   Onde evitare lesioni impreviste, tenere presente quanto segue quando si azionano i dispositivi motorizzati:

   - Prima dell'azionamento controllare lo stato dell'intero sistema microscopio per assicurare la sicurezza quando si azionano i dispositivi memorizzati.
   - Tenere le mani e le dita lontano dal portaobiettivi, dagli obbiettivi, dal tavolino e dai componenti e dal campione sul tavolino per evitare ferite durante il funzionamento.

5. **Evitare contatti con acqua o soluzioni chimiche**

   Non esporre mai questo prodotto all'acqua o a soluzioni chimiche ed evitare l'uso del prodotto in circostanze nelle quali c'è il rischio di esposizione all'acqua o alle soluzioni chimiche. L'esposizione delle parti elettriche (come l'Illuminatore a Fibra Precentrata HG) a liquidi può causare un corto circuito con conseguenti malfunzionamenti o riscaldamento anomalo. Se dell'acqua o della soluzione chimica viene schizzata su questo prodotto, spengere immediatamente l'interruttore generale del prodotto e di tutti i dispositivi periferici (premere nella posizione "O") e staccare il cavo di alimentazione dalla spina. Quindi togliere l'umidità con un panno asciutto e qualcosa di simile. Se acqua o soluzioni chimiche penetrano nel prodotto, sospendere immediatamente l'utilizzo e contattare il rappresentante Nikon più vicino.

6. **Rimuovere ogni copertura prima di accendere il prodotto**

   Non usare il prodotto quando è coperto con un panno etc. Questo provocherebbe un surriscaldamento con rischio di incendio. Non coprire il prodotto con un panno o simili durante l'uso. La temperatura del sistema aumenterebbe provocando dei malfunzionamenti.

7. **Note relative alla disposizione dei cavi**

   Quando la lampada resta accesa per un certo tempo, il portalampada si scalda molto. Cercare di posare i cavi in modo tale che non vengano in contatto col portalampada.

8. **Non mettere oggetti sopra il prodotto.** Non appoggiare nessun oggetto sopra questo prodotto.

9. **Precauzione nel montaggio e nell'installazione del prodotto**

   - Fare attenzione a non schiacciasi le dita o le mani durante il montaggio e l'installazione del prodotto.
   - Graffi o sporco come le impronte delle dita sui componenti ottici (come le lenti e i filtri) degraderanno le immagini del microscopio. Evitare con cura graffi e il contatto diretto con le lenti e i filtri
   - L'unità principale pesa circa 11 Kg. Questo prodotto non è progettato per essere portatile. Quando si sposta il microscopio (ad. esempio per spostarlo in un'altra stanza della stessa struttura) operare almeno in due persone e afferrare saldamente il prodotto dalla base.
   - Rimuovere tutti i dispositivi aggiuntivi (se montati) dal microscopio prima di spostarlo.
   - Non installare il microscopio in un armadietto o in un cabinet.

10. **Precauzioni durante le sessioni di osservazione prolungate**

    Per alleviare la fatica derivante dalle lunghe sessioni di osservazione, limitare le osservazioni continue ad un'ora. Fare almeno 10 - 15 minuti di intervallo fra le sessioni di osservazione. Aggiustare la disposizione degli altri dispositivi usati e l'altezza della vostra sedia.

11. **Precauzioni durante l'uso, il trasporto e il magazzinamento**

    Questo prodotto deve essere in funzione, trasportato o immagazzinato secondo le seguenti condizioni. Installare il prodotto in un luogo caldo e umido può provocare la formazione di muffe o di condensa sulle lenti indebolendo le prestazioni o causando dei malfunzionamenti.

    - Condizioni operative
      - temperatura da 0 a 40°C
      - umidità: max 60% RH (senza condensazione)
    - Condizioni per il trasporto
      - temperatura da -20°C a 60°C
      - umidità: max 90% RH (senza condensazione

12. **Precauzioni nello smaltimento del prodotto**

    Al fine di evitare rischi biologici questo prodotto deve essere trattato, nello smaltimento, come apparecchiatura contaminata in accordo quindi con le procedure standard specificate nella vostra infrastruttura.

Note sul maneggio del prodotto

1. **Maneggiare il prodotto con cautela**
   Questo prodotto è uno strumento di precisione. Evitare di sottoporlo a impatti improvvisi e urti. Anche impatti di relativa minore entità possono influire negativamente sulla precisione dell'obbiettivo.

2. **Emissione di deboli onde elettromagnetiche**
   Il prodotto emette deboli onde elettromagnetiche. Non installare il prodotto vicino a dispositivi elettronici di precisione onde evitare possibili degradazioni delle loro prestazioni. Se la ricezione della TV o della radio dovessero essere influenzate, allontanare la TV o la radio dal prodotto.

3. **Graffi, polvere e particelle estranee sulle lenti**
   Graffi o sporco come le impronte digitali sui componenti ottici (come le lenti e i filtri) degraderanno le immagini del microscopio. Se queste parti si sporcano, ripulirle seguendo la descrizione riportata nel Capitolo 3 "2.1 Pulizia delle lenti" nel manuale "Montaggio/Manutenzione".

4. **Luogo di installazione**
   Il prodotto è uno strumento di precisione. l'uso o il magazzinamento in condizioni non idonee può produrre malfunzionamenti o degradazione nella precisione. Tenere conto delle seguenti condizioni quando si sceglie il luogo dove installarlo.

   - Scegliere un posto senza vibrazioni. Installare il prodotto su una superficie piana.
   - Installare il prodotto ad almeno 10 cm di distanza dalle pareti.
   - Scegliere un luogo meno esposto nel caso di collisioni, terremoti o altri potenziali eventi disastrosi. Per prevenire cadute del prodotto usare funi robuste o altri mezzi, se necessario, per assicurarlo al piano di lavoro o ad un altro elemento pesante e stabile. Per fissare il microscopio, ci sono due fori per viti M6 (uno a destra e un altro a sinistra) dietro la nicchia sulla unità principale nella parte posteriore in basso.
   - Scegliere una disposizione che permetta una facile rimozione del cavo di alimentazione dal connettore di input CA del prodotto nel caso si verifichi un'emergenza.
   - Non usare tappeti da tavolo o simili.
   - Evitare un luogo direttamente esposto alla luce solare luoghi immediatamente sotto le luci della stanza e altri luoghi molto illuminati.
   - Le luci della stanza situate sopra a questo prodotto possono entrando negli obiettivi come luce spuria. Se possibile spengere la luce situata direttamente sopra al prodotto quando si fanno delle osservazioni.
   - Scegliere un luogo che sia minimamente esposto alla polvere.
   - Per evitare schizzi, non usare questo prodotto vicino all'acqua.
   - Assicurarsi che la temperatura ambiente sia compresa fra 0 e +40°C e l'umidità sia 60% o inferiore. Quando si trasporta o si immagazzina il prodotto temperatura ambiente deve essere compresa fra -20 e +60°C con umidità relativa al 90% massimo (senza condensazione). L'installazione del prodotto in ambienti caldi e umidi può dar luogo a formazione di muffa o condensa, pregiudicando le prestazioni o generando malfunzionamenti.
   - Non installare il prodotto in un armadio o in un cabinet.

5. **Azionamento della manopola di messa a fuoco.**
   - Non ruotare contemporaneamente le manopole di messa a fuoco poste sui lati destro e sinistro del microscopio in direzioni opposte. Facendo questo si può danneggiare il prodotto.

6. **Proteggere le porte dalla polvere e dalla luce indesiderata**
   Montare sempre i tappi in dotazione su ogni porta non utilizzata, sulle fessure per le slider, sui fori di montaggio obbiettivo quando sono installati il tubo, la torretta cubo fluorescenza, il portaobbiettivi o altri dispositivi. In caso contrario luce spuria o polvere possono entrare nel prodotto.

7. **Maneggio dei filtri (quando si usa il dispositivo per Epi-fluorescenza).**

   - I filtri di eccitazione all'interno del cubo filtro sono esposti ad una luce intensa e degradano nel tempo. Sostituirli dopo il numero di ore d'uso stabilito.

   - Le caratteristiche dei filtri si possono alterare se il filtro è esposto ad un'alta umidità. Per prevenire cambiamenti o degradazioni nelle caratteristiche dei filtri, evitare di usare o immagazzinare i filtri stessi sotto condizioni di alta umidità o alta temperatura. Evitare di sottoporre i filtri ad un rapido cambiamento di temperatura. Quando un filtro non è in uso, riporlo in un essiccatore o in un contenitore sigillato con un agente essiccante.

   - I filtri nei nove tipi di cubi filtro elencati di seguito, offrono caratteristiche di nitidezza e forme d'onda ad alta risoluzione superiori ai normali filtri. Tuttavia, a causa del loro sofisticato trattamento superficiale, devono essere maneggiati con speciale cura. In particolare, evitare abrasioni durante la pulizia. (Seguire le procedure descritte in Volume 2 "Montaggio/Manutenzione", Capitolo 3 , paragrafo 2 "Pulizia delle lenti"
     Cubi filtro singola banda: DAPI, FITC, TxRed, GFP
     Cubi filtro multi banda: F-R, F-T, D-F, D-F-R, D-F-T

8. **Dispositivi motorizzati**
   Quando si usano dei dispositivi motorizzati, non forzarli nel movimento o arrestarli con le mani.

9. **Vibrazioni durante il funzionamento delle unità motorizzate**
   Anche se il prodotto è progettato per minimizzare la quantità di vibrazioni durante il funzionamento delle unità motorizzate, notare che possono ancora verificarsi degli effetti sui risultati della microscopia.

10. **Disimballaggio e sblocco**

    1) Controllo del contenuto della confezione.

    - ECLIPSE Ni-U X1
    - Cacciavite esagonale X3
    - Chiave esagonale X2
    - Cassetta di attrezzi X1
    - Etichette adesive X2 tipi (Etichette adesive per coprire i fori di montaggio accessori, sulla parte superiore del braccio, non utilizzati e targhette con nome per filtro ND aggiuntivo su cassetta filtro ND)

    2) Prima di collegare il cavo di alimentazione, sollevare il tavolino ruotando le manopole di messa a fuoco e rimuovere il dispositivo di protezione che si trova sotto il tavolino.

    3) Non smaltire i materiali di imballaggio. Essi potranno essere riutilizzati per il trasporto.

1 Componenti

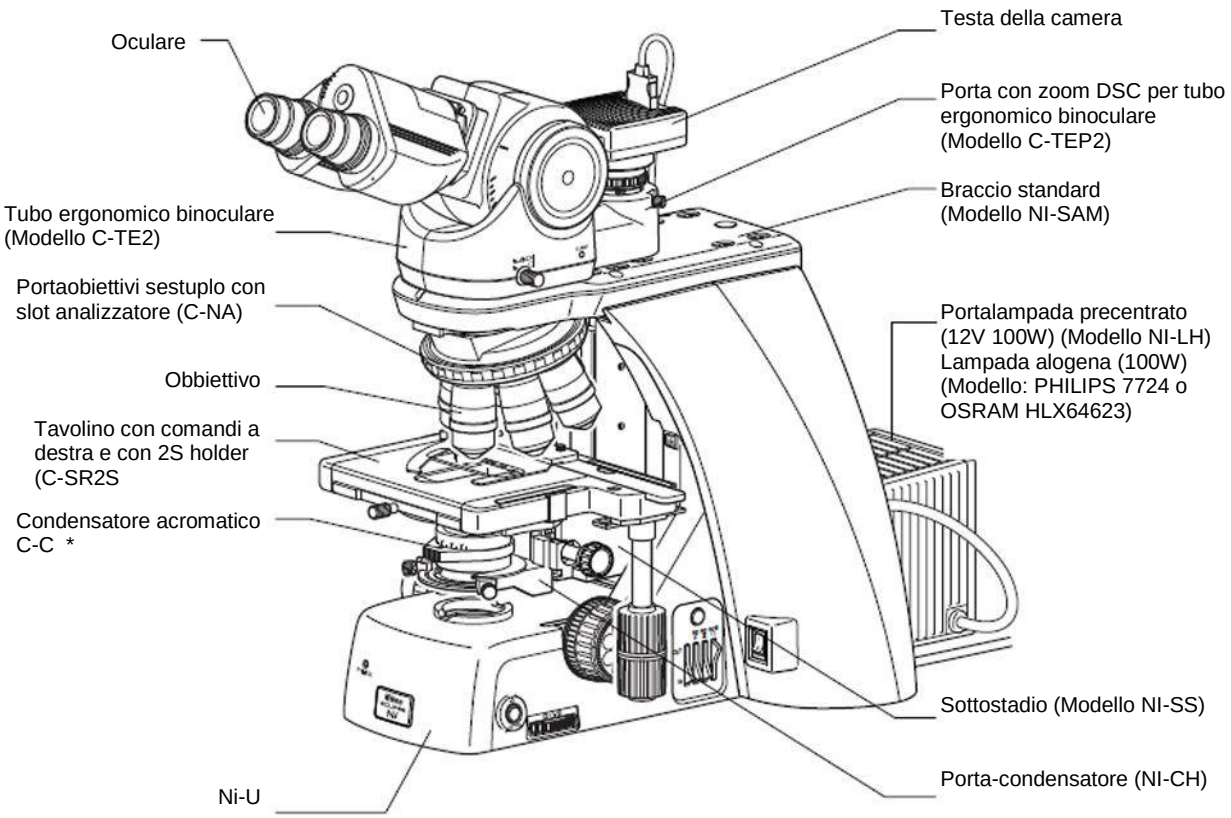
Questo capitolo mostra le figure dei dispositivi necessari per ciascuna microscopia motorizzata col nome dei componenti e dei comandi.

Le figure sono solo esempi delle configurazioni di base. Sono disponibili anche dei sistemi diversi da quelli mostrati.

Per una lista dei componenti usati nel microscopio ECLIPSE Ni-U riferirsi al Capitolo 1, “2 Lista dei componenti” nel manuale di istruzione “Montaggio/Manutenzione” fornito separatamente.

1 Configurazione di sistema e comandi per la microscopia in campo chiaro/scuro

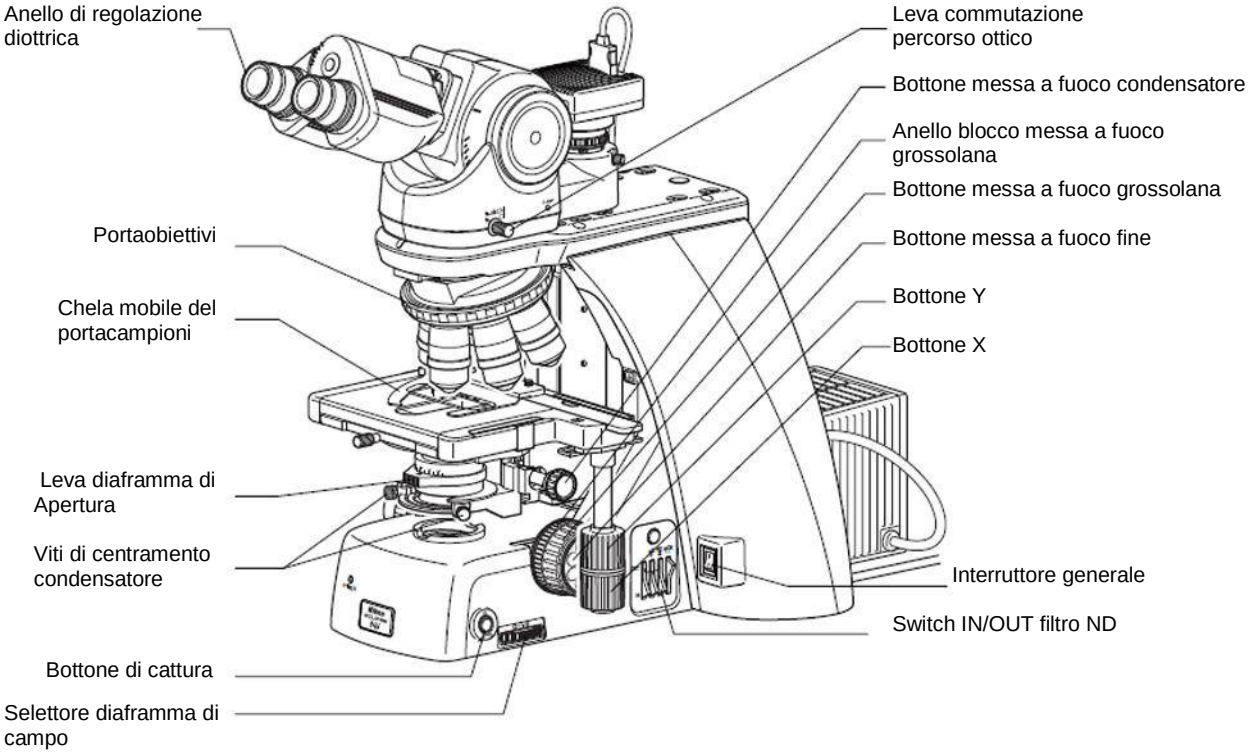
1.1 Componenti

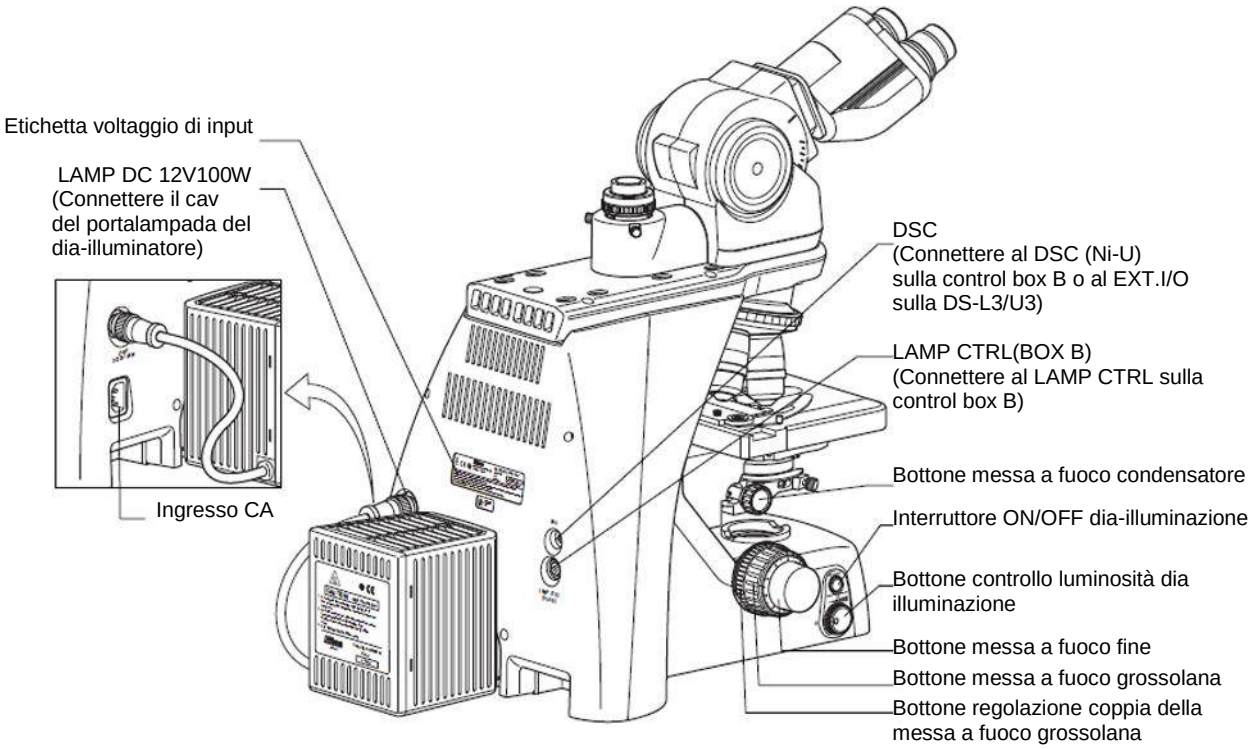

Oculare
Testa della camera
Porta con zoom DSC per tubo ergonomico binoculare (Modello C-TEP2)
Braccio standard (Modello NI-SAM)
Tubo ergonomico binoculare (Modello C-TE2)
Portaobiettivi sestuplo con slot analizzatore (C-NA)
Portalampada precentrato (12V 100W) (Modello NI-LH) Lampada alogena (100W) (Modello: PHILIPS 7724 o OSRAM HLX64623)
Obbiettivo
Tavolino con comandi a destra e con 2S holder (C-SR2S
Condensatore acromatico C-C *
Sottostadio (Modello NI-SS)
Porta-condensatore (NI-CH)
Ni-U

*** Condensatore per microscopia in campo scuro**

Il componente della microscopia in campo scuro è il condensatore in campo scuro (in olio o a secco), il condensatore universale (a secco) o il condensatore C-C a contrasto di fase. Sul condensatore universale deve essere montato un diaframma anulare in campo scuro. Sul condensatore a contrasto di fase C-C è montato un diaframma anulare in campo scuro

1.2 Comandi


Anello di regolazione diottrica
Portaobiettivi
Chela mobile del portacampioni
Leva diaframma di Apertura
Viti di centramento condensatore
Bottone di cattura
Selettore diaframma di campo
Leva commutazione percorso ottico
Bottone messa a fuoco condensatore
Anello blocco messa a fuoco grossolana
Bottone messa a fuoco grossolana
Bottone messa a fuoco fine
Bottone Y
Bottone X
Interruttore generale
Switch IN/OUT filtro ND

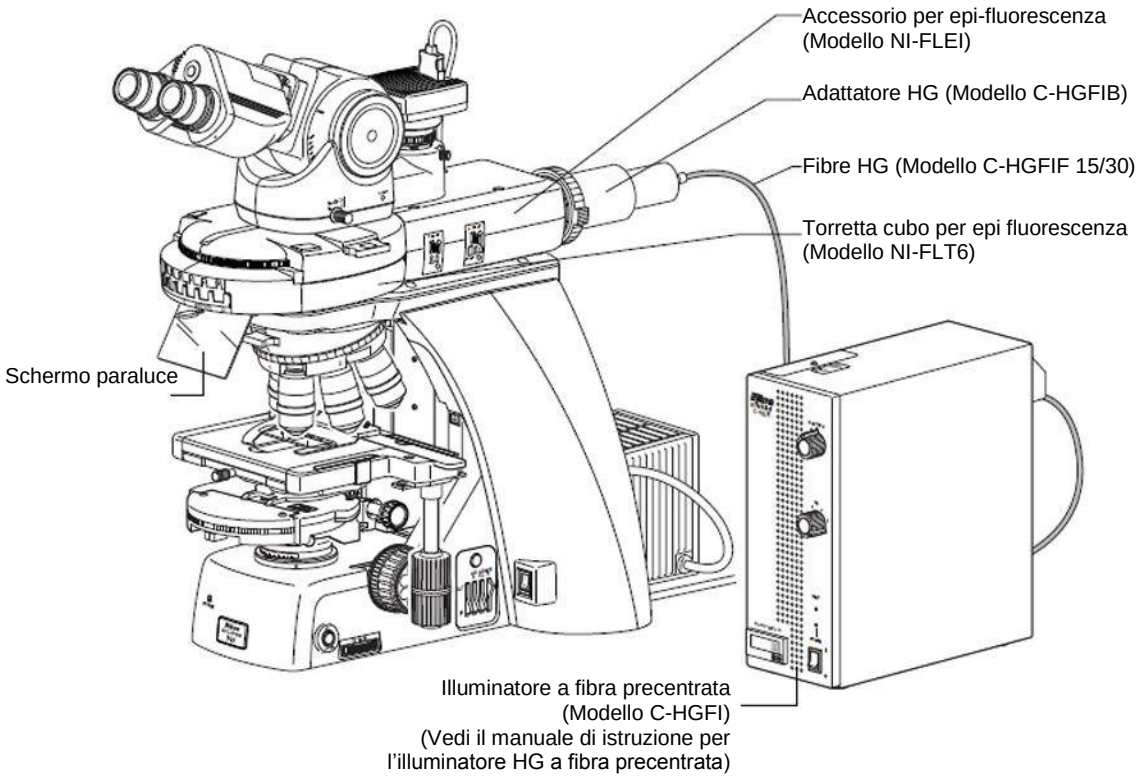

Etichetta voltaggio di input
LAMP DC 12V100W (Connettere il cav del portalampada del dia-illuminatore)
Ingresso CA
DSC (Connettere al DSC (Ni-U) sulla control box B o al EXT.I/O sulla DS-L3/U3)
LAMP CTRL(BOX B) (Connettere al LAMP CTRL sulla control box B)
Bottone messa a fuoco condensatore
Interruttore ON/OFF dia-illuminazione
Bottone controllo luminosità dia illuminazione
Bottone messa a fuoco fine
Bottone messa a fuoco grossolana
Bottone regolazione coppia della messa a fuoco grossolana

2 Configurazione di sistema e comandi per la microscopia in Epi-fluorescenza

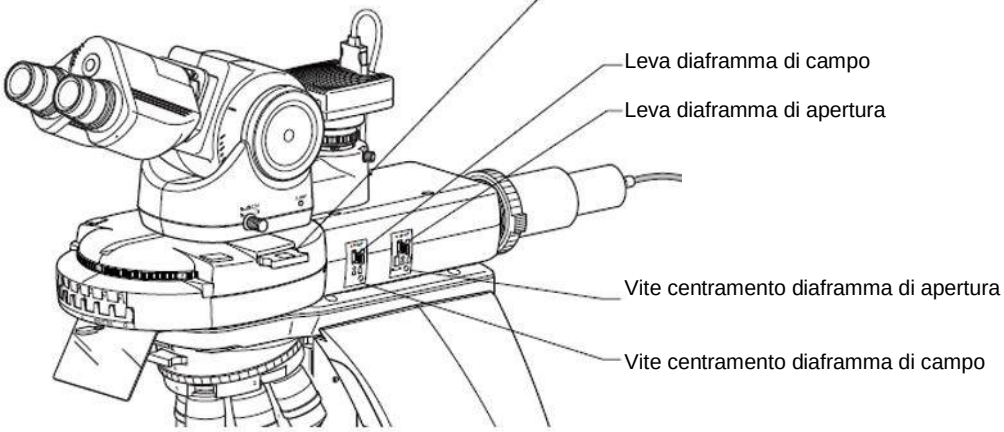
Questo paragrafo descrive i componenti richiesti per la microscopia in epi-fluorescenza.

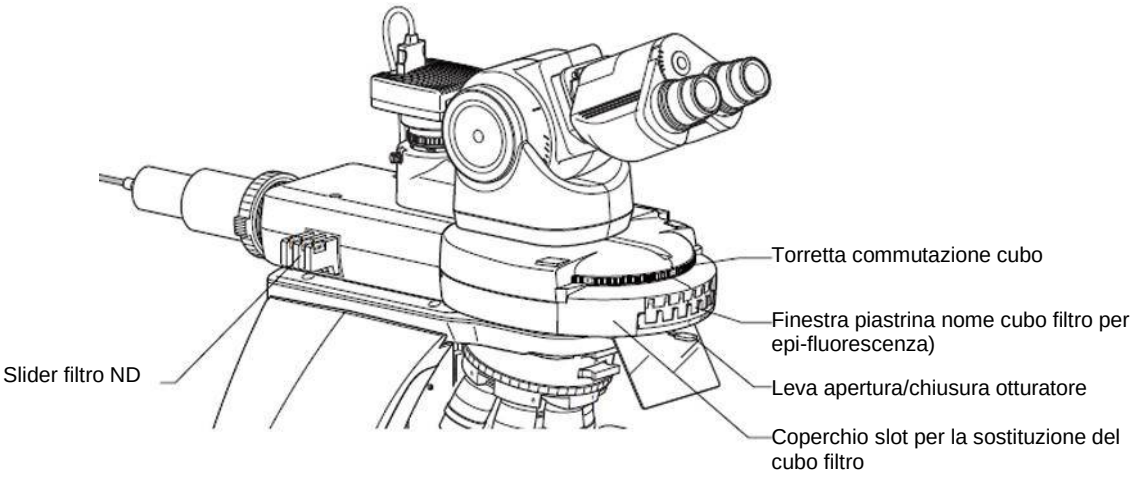
I componenti fondamentali comuni con la microscopia in campo chiaro vengono omessi. Per i dettagli riferirsi al paragrafo “1 Configurazione di sistema e comandi per la microscopia in campo chiaro/scuro”.

Componenti



Comandi

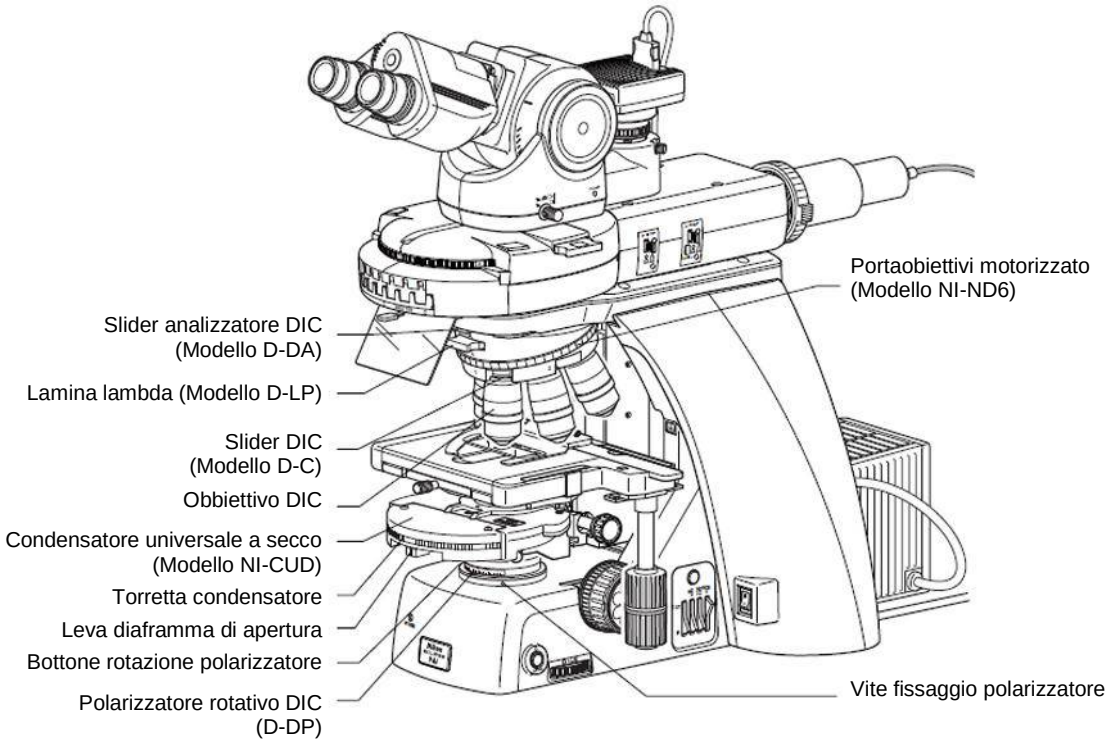

NI-FA Slider analizzatore FL/DIC
(usato per epi-fluorescenza/microscopia
a interferenza differenziale)
Leva diaframma di campo
Leva diaframma di apertura
Vite centramento diaframma di apertura
Vite centramento diaframma di campo


Torretta commutazione cubo
Finestra piastrina nome cubo filtro per
epi-fluorescenza)
Slider filtro ND
Leva apertura/chiusura otturatore
Coperchio slot per la sostituzione del
cubo filtro

3 Configurazione di sistema e comandi per la microscopia a interferenza differenziale

Questo paragrafo descrive i componenti richiesti per la microscopia a contrasto di interferenza differenziale.

I componenti fondamentali comuni con la microscopia in campo chiaro vengono omessi. Per i dettagli riferirsi al paragrafo 1 “Configurazione di sistema e comandi per la microscopia in campo chiaro/scuro”.

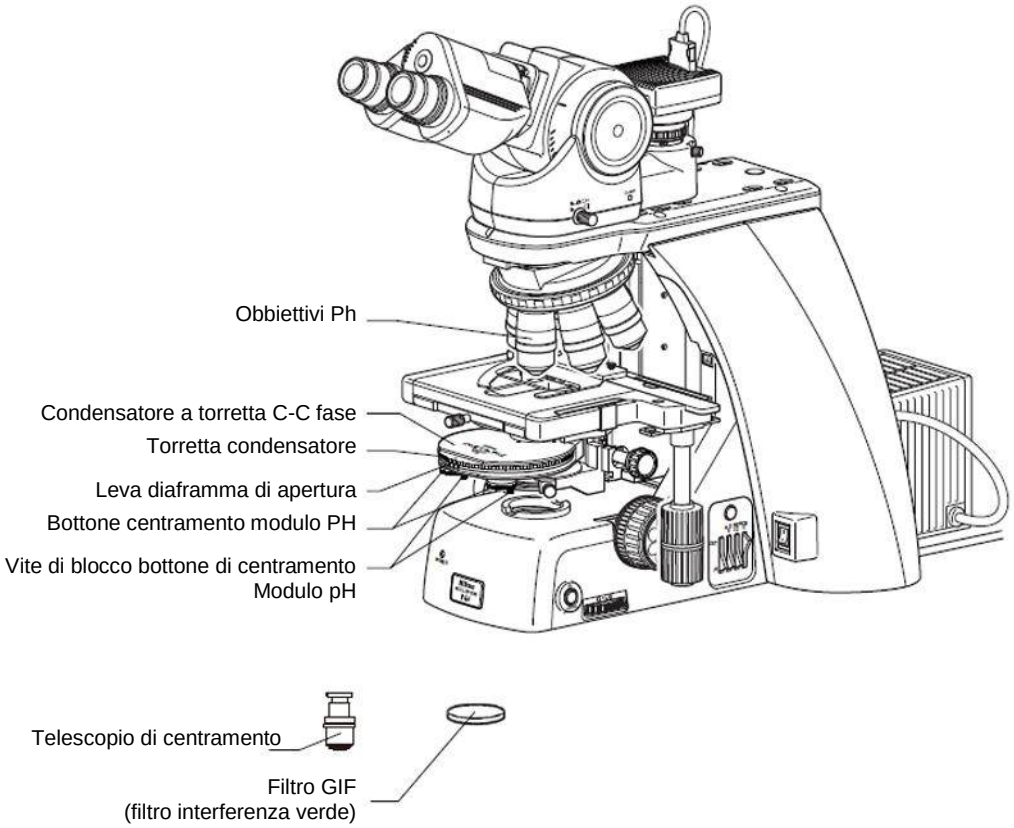


- Il componente della microscopia a contrasto di interferenza differenziale è il condensatore universale a secco o il condensatore DIC in olio. Sul condensatore universale a secco deve essere montato un modulo DIC. (La figura è un esempio di un condensatore universale a secco).
- Quando si eseguono simultaneamente una microscopia a interferenza differenziale e una microscopia in epi-fluorescenza devono essere installati anche i componenti per epi-fluorescenza.

4 Configurazione di sistema e comandi per la microscopia a contrasto di fase

Questo paragrafo descrive i componenti richiesti per la microscopia a contrasto di fase.

I componenti fondamentali comuni con la microscopia in campo chiaro vengono omessi. Per i dettagli riferirsi al paragrafo “1 Configurazione di sistema e comandi per la microscopia in campo chiaro/scuro”.

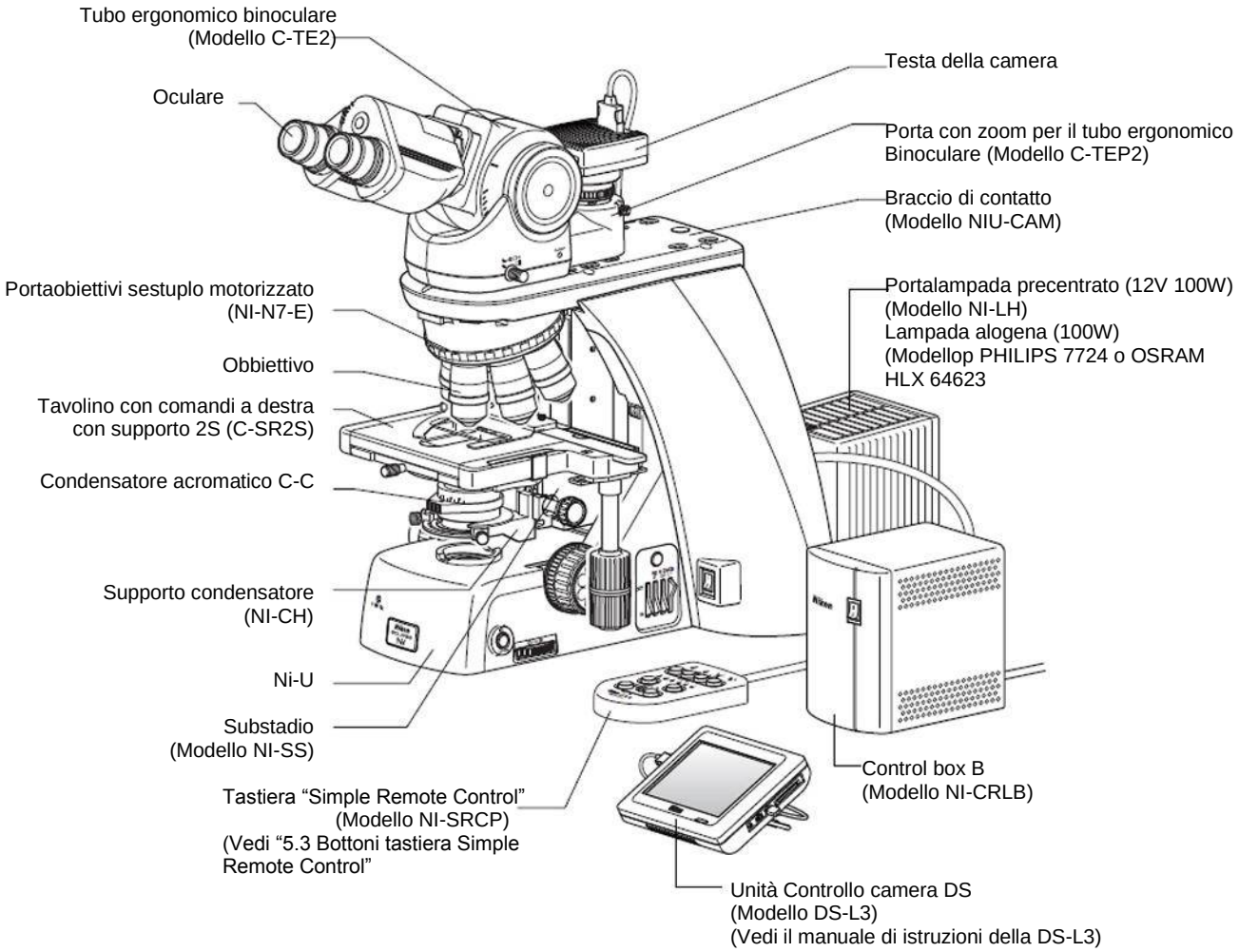


- Il componente della microscopia a contrasto di fase è il condensatore a torretta C-C fase o il condensatore universale a secco. Sul condensatore universale deve essere montato un modulo PH. (La figura è un esempio di condensatore a torretta C-C fase.
- Quando si eseguono simultaneamente una microscopia a contrasto di fase e una microscopia in epi-fluorescenza sono installati anche i componenti per epi-fluorescenza.

5 Configurazione di sistema e comandi per la microscopia motorizzata in campo chiaro

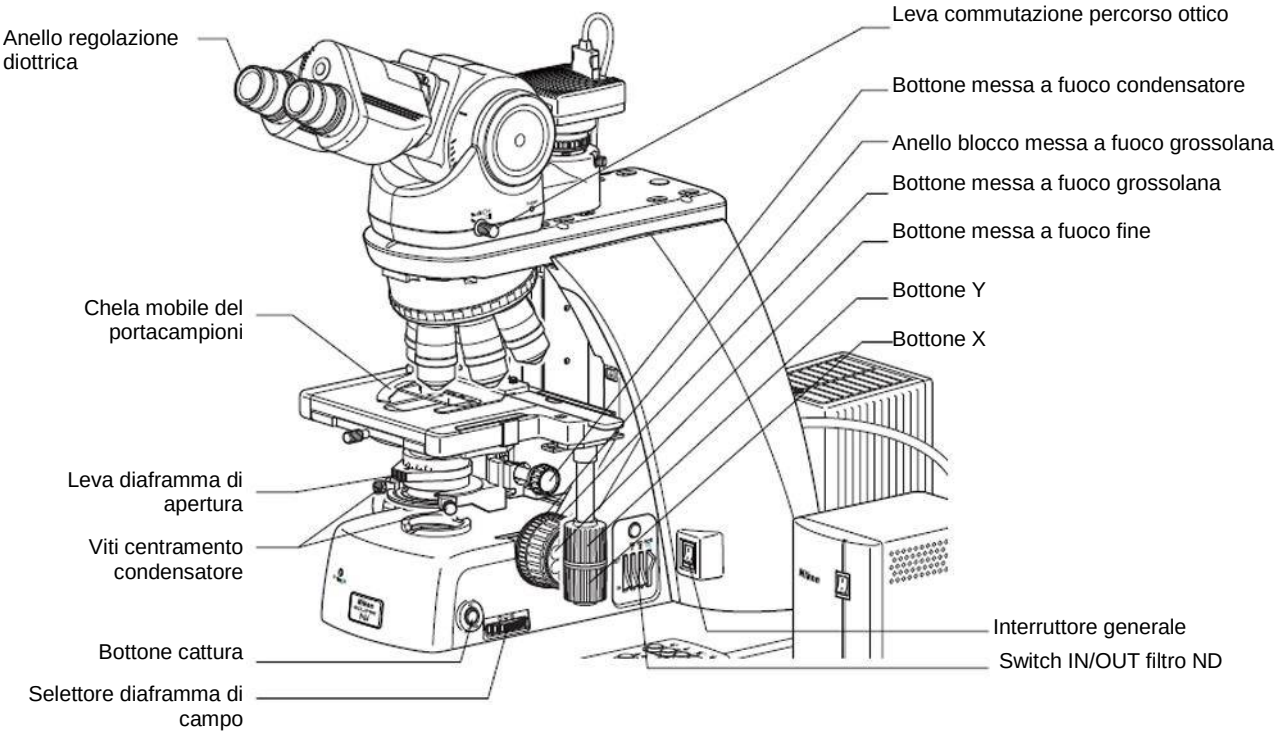
Questo paragrafo descrive la configurazione di sistema per la microscopia motorizzata in campo chiaro montando sul Ni-U del portaobbiettivi motorizzato per eseguire la commutazione motorizzata degli obbiettivi.

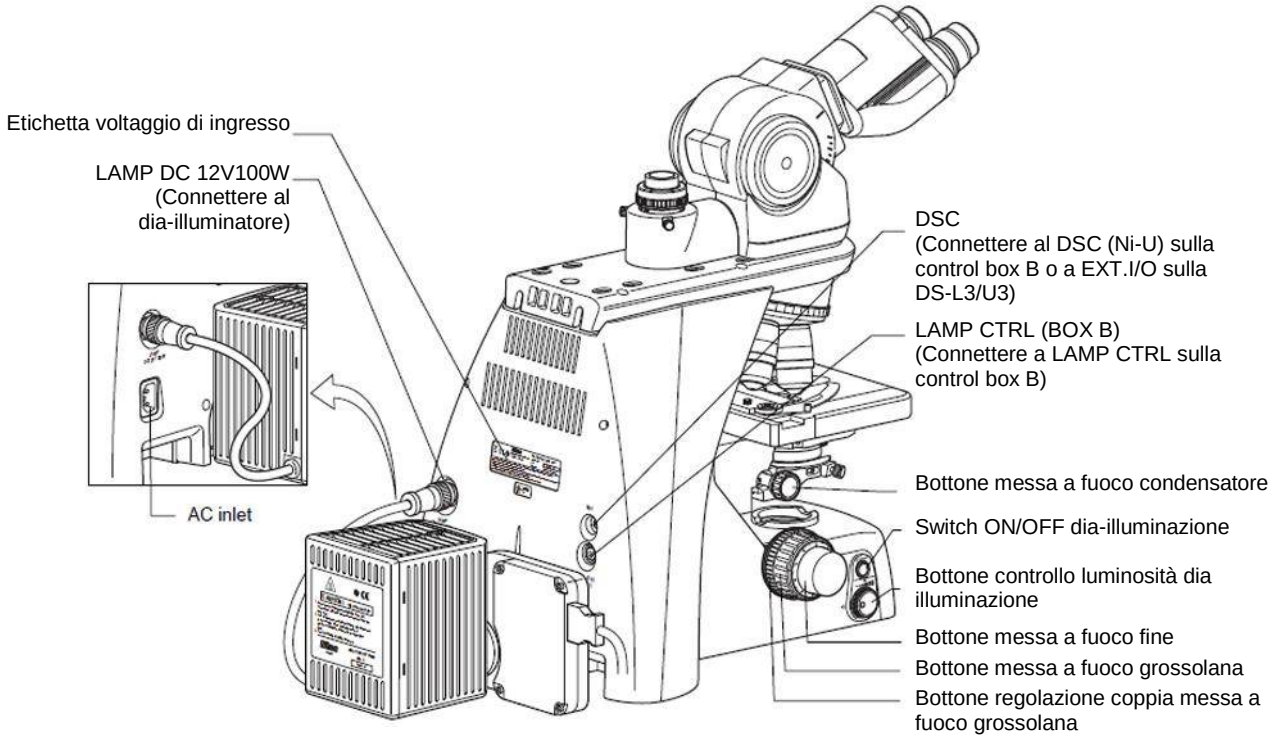
5.1 Componenti


Tubo ergonomico binoculare (Modello C-TE2)
Oculare
Testa della camera
Porta con zoom per il tubo ergonomico Binoculare (Modello C-TEP2)
Braccio di contatto (Modello NIU-CAM)
Portaobiettivi sestuplo motorizzato (NI-N7-E)
Obbiettivo
Tavolino con comandi a destra con supporto 2S (C-SR2S)
Condensatore acromatico C-C
Portalampada precentrato (12V 100W) (Modello NI-LH) Lampada alogena (100W) (Modellop PHILIPS 7724 o OSRAM HLX 64623
Supporto condensatore (NI-CH)
Ni-U
Substadio (Modello NI-SS)
Tastiera “Simple Remote Control” (Modello NI-SRCP) (Vedi “5.3 Bottoni tastiera Simple Remote Control”
Control box B (Modello NI-CRLB)
Unità Controllo camera DS (Modello DS-L3) (Vedi il manuale di istruzioni della DS-L3)

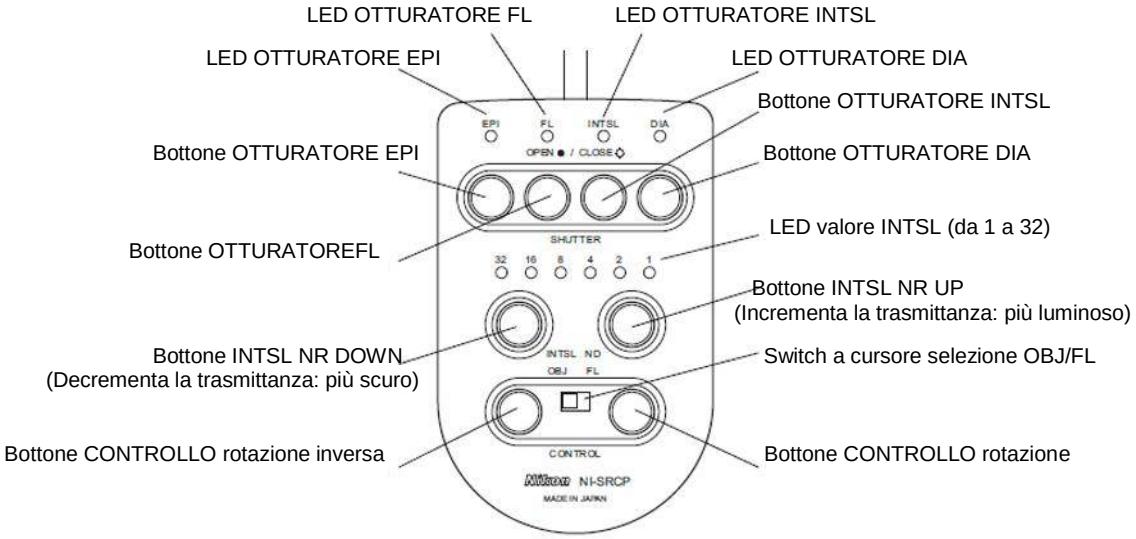
- E’ possibile montare un otturatore motorizzato (Modello NI-SH-E) fra il retro della base del microscopio e il portalampada.

5.2 Comandi

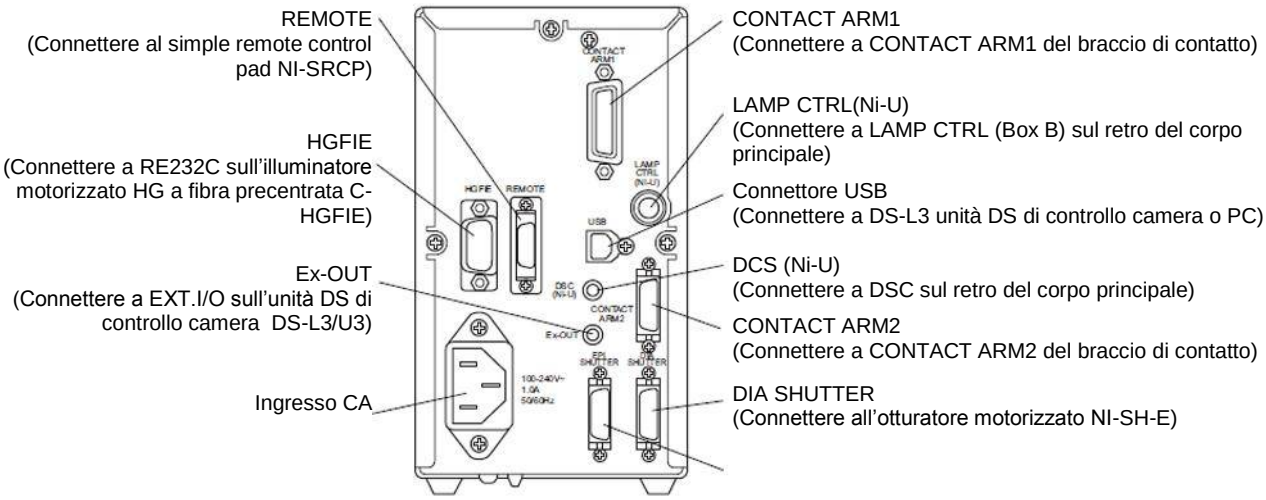

Anello regolazione diottrica
Leva commutazione percorso ottico
Bottone messa a fuoco condensatore
Anello blocco messa a fuoco grossolana
Bottone messa a fuoco grossolana
Bottone messa a fuoco fine
Bottone Y
Bottone X
Chela mobile del portacampioni
Leva diaframma di apertura
Viti centramento condensatore
Bottone cattura
Selettore diaframma di campo
Interruttore generale
Switch IN/OUT filtro ND


Etichetta voltaggio di ingresso
LAMP DC 12V100W (Connettere al dia-illuminatore)
AC inlet
DSC (Connettere al DSC (Ni-U) sulla control box B o a EXT.I/O sulla DS-L3/U3)
LAMP CTRL (BOX B) (Connettere a LAMP CTRL sulla control box B)
Bottone messa a fuoco condensatore
Switch ON/OFF dia-illuminazione
Bottone controllo luminosità dia illuminazione
Bottone messa a fuoco fine
Bottone messa a fuoco grossolana
Bottone regolazione coppia messa a fuoco grossolana

5.3 Bottoni della tastiera Simple Remote Control



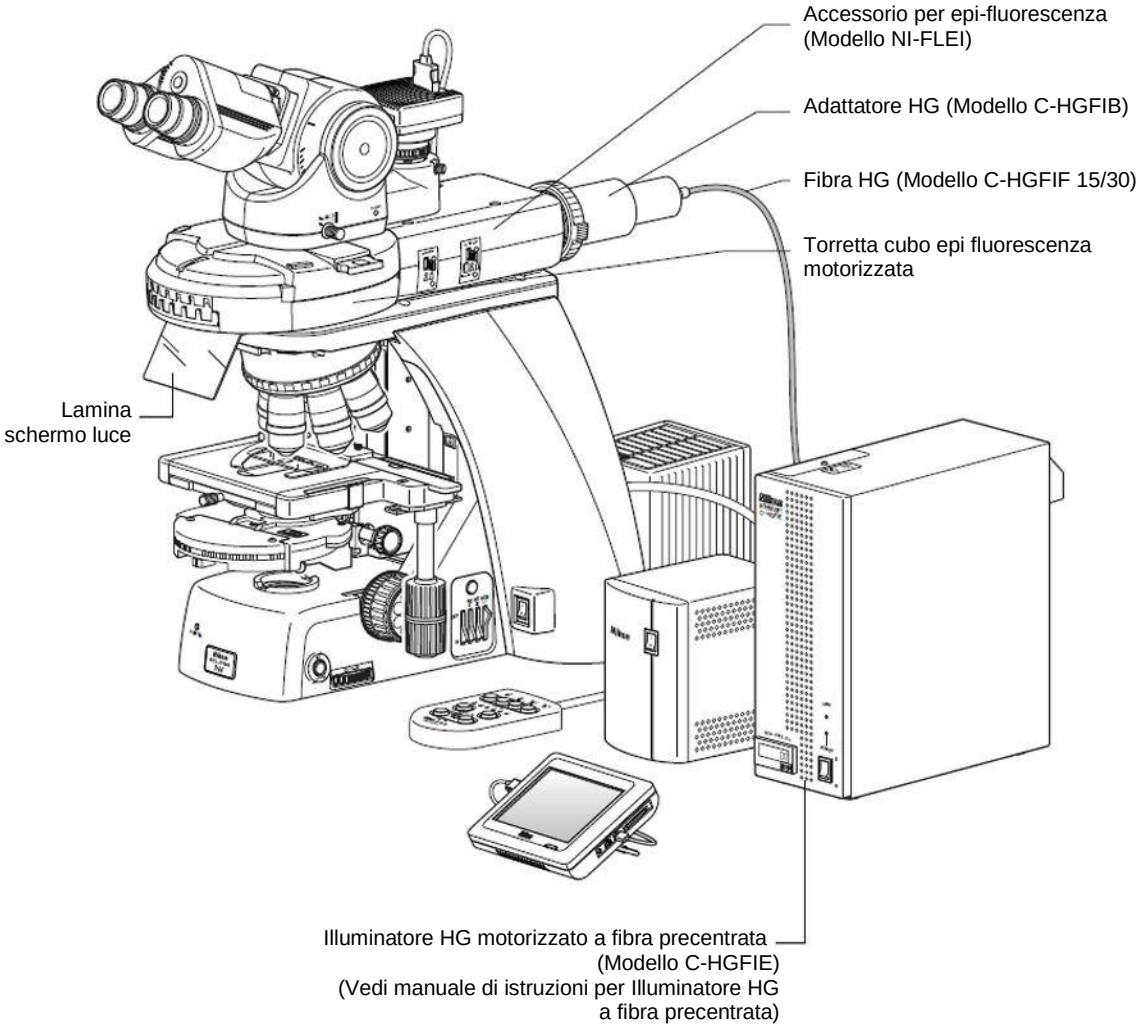
5.4 Connettori della Control Box B



6 Configurazione di sistema e comandi per Epi-fluorescenza motorizzata

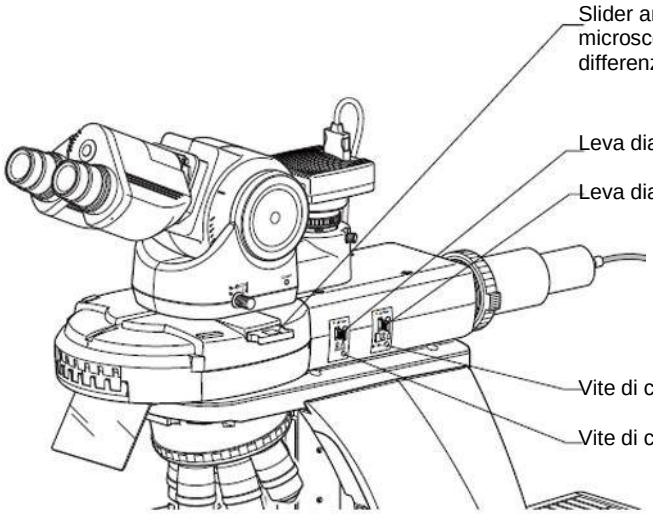
Questo paragrafo descrive la configurazione di sistema per la microscopia motorizzata in epi fluorescenza montando sull'Ni-U un portaobbiettivi motorizzato o una torretta cubo per epi fluorescenza e commutando l'obbiettivo o il cubo filtro mediante il motore.
I componenti fondamentali usati in comune con la microscopia motorizzata in campo chiaro sono omessi. Per i dettagli riferirsi a "5 Configurazione di sistema e comandi per la microscopia motorizzata in campo chiaro".

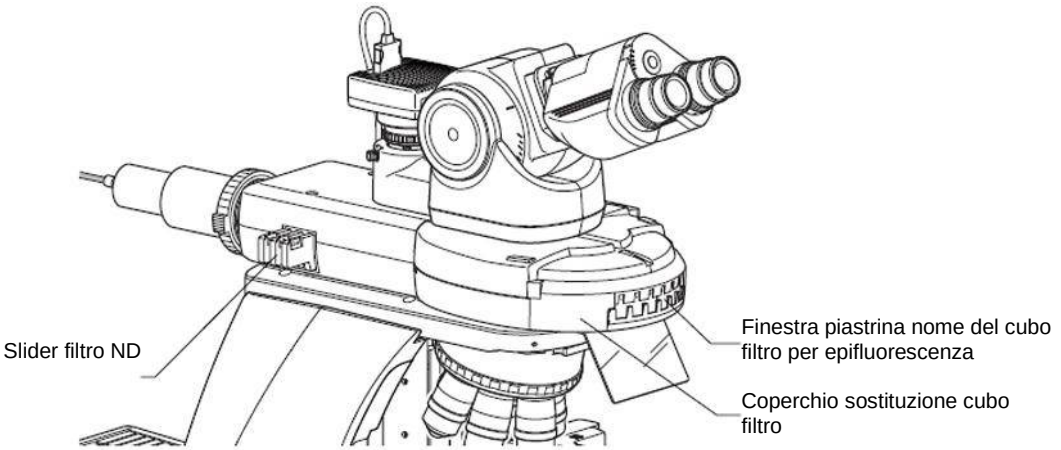
Componenti



- E' possibile montare un otturatore motorizzato (modello NI-SH-E) fra l'accessorio per epifluorescenza e l'adattatore HG.

Comandi


Slider analizzatore NI-FA FL/DIC (usato per la microscopia in epifluorescenza / interferenza differenziale)
Leva diaframma di campo
Leva diaframma di apertura
Vite di centramento diaframma di apertura
Vite di centramento diaframma di campo


Slider filtro ND
Finestra piastrina nome del cubo filtro per epifluorescenza
Coperchio sostituzione cubo filtro

2 Operazioni di microscopia

Questo capitolo descrive la procedura per le operazioni di microscopia manuale e motorizzata come mostrato di seguito. Negli esempi sono usate le configurazioni di sistema di base illustrate nel precedente capitolo.

Operazione 1: Microscopia in campo chiaro/scuro (incluse le note sulla microscopia in campo scuro)
Operazione 2: Microscopia in epi-fluorescenza (incluse le note sulla microscopia in epi-fluorescenza/contrasto di interferenza differenziale e microscopia in epi-fluorescenza/contrasto di fase
Operazione 3: Microscopia in contrasto di interferenza differenziale
Operazione 4: Microscopia a contrasto di fase
Operazione 5: Microscopia motorizzata in campo chiaro.
Operazione 6: Microscopia motorizzata in epi-fluorescenza.

Nelle procedure descritte di seguito si assume che tutti i componenti richiesti siano montati sul microscopio con tutti i cavi necessari connessi propriamente e che siano state completate le registrazioni delle informazioni per il funzionamento motorizzato.
Se deve essere completato il montaggio del microscopio vedere il Capitolo 1 “3 Montaggio” nel manuale di istruzione “Montaggio/Manutenzione” fornito separatamente, per procedere al completamento del montaggio.

1 Diagramma di flusso delle operazioni

Di seguito viene mostrato il diagramma di flusso delle operazioni per ciascuna microscopia. Per i dettagli vedere le procedure ogni microscopia nel prossimo paragrafo del manuale.

Microscopia in campo chiaro/scuro

Preparazione		
1	Accendere l'interruttore generale	P20
2	Accendere la lampada di dia-illuminazione	P20
3	Regolare il percorso ottico del tubo per dirigere il 100% della luce nella sezione binoculare	P21
4	Abbassare leggermente il condensatore dalla sua posizione più elevata	P21
5	Aprire completamente i diaframmi di campo e di apertura	P21
→	Per la microscopia in campo scuro, a questo punto, impostare la torretta del condensatore nella posizione [O: empry]. (Questo passo non è necessario per la microscopia in campo chiaro).	P22

Regolazione del fuoco e del sistema ottico		
6	Portare nel percorso ottico l'obbiettivo 10x	P22
7	Mettere un campione sul tavolino e spostarlo per portare in vista il campione	P22
8	Mettere a fuoco il campione	P23
9	Eseguire l'aggiustamento diottrico	P23
10	Regolare la distanza interpupillare	P24
11	Mettere a fuoco e centrare il condensatore	P24
→	Per la microscopia in campo scuro impostare la torretta del condensatore nella posizione [DF] (diaframma anulare campo scuro) – (Questo passo non è necessario per la microscopia in campo chiaro)	P24
12	Portare nel percorso ottico l'obbiettivo arbitrario.	P25
14	Regolare il diaframma di apertura	P25
→	Per la microscopia in campo scuro, la regolazione del diaframma di apertura non viene effettuata qui. Mantenerlo aperto.	P28
14	Mettere a fuoco il campione	P25
15	Regolare il diaframma di campo	P26
16	Regolare la luminosità	P26

Microscopia		
17	Osservare il campione	P27
18	Spengere il microscopio	P28

Microscopia in Epi-fluorescenza

Preparazione		
1	Spengere la lampada di dia-illuminazione	P29
2	Chiudere l'otturatore e bloccare il percorso di illuminazione	P29
3	Portare nel percorso ottico il cubo filtro	P30
4	Aprire completamente i diaframmi di campo e di apertura del dispositivo di epi-fluorescenza	P30
5	Accendere la lampada al mercurio	P30
6	Per eseguire una microscopia con differenti ingrandimenti:	P31
7	Aprire l'otturatore	P31

Regolazione del fuoco e del sistema ottico		
8	Mettere a fuoco il campione	P32
9	Centrare il diaframma di campo del dispositivo Epi-fluorescenza	P32
10	Regolare il diaframma di campo del dispositivo Epi-fluorescenza	P33
11	Regolare la luminosità	P33

Osservazione del campione		
12	Osservare il campione	P34
13	Spengere la lampada a mercurio	P34
14	Spengere il microscopio	P35

	Passaggio a microscopia in campo chiaro da microscopia in Epi-fluorescenza	P36
	Passaggio a microscopia in Epi-fluorescenza da microscopia a contrasto di interferenza differenziale	P37
	Passaggio da microscopia a contrasto di fase a microscopia in Epi-fluorescenza	P40

Microscopia a contrasto di interferenza differenziale

Preparazione		
1	Accendere l'interruttore generale	P42
2	Accendere la lampada di dia-illuminazione	P42
3	Impostare il percorso ottico del tubo per dirigere il 100% della luce nella sezione binoculare	P43
4	Abbassare leggermente il condensatore dalla sua posizione più elevata	P43
5	Aprire completamente i diaframmi di campo e di apertura	P43
6	Portare la torretta del condensatore nella posizione [O: empty]	P44
7	Rimuovere il polarizzatore, l'analizzatore, la lamina lambda e lo spider/modulo DIC dal percorso ottico	P44

Regolazione del fuoco e del sistema ottico		
8	Portare nel percorso ottico l'obbiettivo 10x	P45
9	Mettere un campione sul tavolino e spostarlo per portare in vista il campione	P45
10	Mettere a fuoco il campione	P46
11	Eseguire l'aggiustamento diottrico	P46
12	Regolare la distanza interpupillare	P47
13	Mettere a fuoco e centrare il condensatore	P47
14	Regolare l'orientamento (direzione di vibrazione) del polarizzatore e dell'analizzatore	P48
15	Portare nel percorso ottico un obbiettivo DIC arbitrario	P48
16	Montare lo slider DIC (per l'obbiettivo) sul portaobbiettivi.	P49
17	Portare nel percorso ottico il modulo DIC (per il condensatore)	P49
18	Regolare il diaframma di apertura	P49
19	Mettere a fuoco il campione	P50
20	Regolare il diaframma di campo	P50
21	Regolare la luminosità	P51

Microscopia		
22	Osservare il campione	P52
23	Spengere il microscopio	P53

	Passaggio a microscopia in campo chiaro da microscopia a Interferenza differenziale	P54
	Passaggio a microscopia in Epi-fluorescenza da microscopia a Contrasto di interferenza differenziale.	P37

Microscopia a contrasto di fase

Preparazione		
1	Accendere l'interruttore generale	P55
2	Accendere la lampada di dia-illuminazione	P55
3	Impostare il percorso ottico del tubo per dirigere il 100% della luce nella sezione binoculare	P56
4	Abbassare leggermente il condensatore dalla sua posizione più elevata	P56
5	Portare la torretta del condensatore nella posizione [A: empty]	P56
6	Aprire completamente i diaframmi di campo e di apertura	P57

Regolazione del fuoco e del sistema ottico		
7	Portare nel percorso ottico l'obbiettivo 10x (Ph1)	P57
8	Mettere un campione sul tavolino e spostarlo per portare in vista il campione	P57
9	Mettere a fuoco il campione	P58
10	Eseguire l'aggiustamento diottrico	P58
11	Regolare la distanza interpupillare	P59
12	Mettere a fuoco e centrare il condensatore	P59
13	Portare nel percorso ottico il modulo PH (Ph1)	P59
14	Centrare il modulo PH	P60
15	Portare nel percorso ottico un obbiettivo Ph arbitrario	P60
16	Regolare il modulo PH nel condensatore con l'obbiettivo Ph da usare	P61
17	Diaframma di apertura (nessuna regolazione)	P61
18	Mettere a fuoco il campione	P61
19	Regolare il diaframma di campo	P62
20	Regolare la luminosità	P62

Microscopia		
21	Osservare il campione	P63
22	Spengere il microscopio	P63

	Passaggio da microscopia a contrasto di fase a microscopia in campo chiaro	P64
	Passaggio da microscopia contrasto di fase a microscopia in Epi-fluorescenza	P40

Microscopia motorizzata in campo chiaro

Preparazione		
1	Accendere l'interruttore generale	P65
2	Accendere la lampada di dia-illuminazione	P66
3	Impostare il percorso ottico del tubo per dirigere il 100% della luce nella sezione binoculare	P66
4	Abbassare leggermente il condensatore dalla sua posizione più elevata	P67
5	Aprire completamente i diaframmi di campo e di apertura	P67

Regolazione del fuoco e del sistema ottico		
6	Portare nel percorso ottico l'obbiettivo 10x	P68
7	Mettere un campione sul tavolino e spostarlo per portare in vista il campione	P69
8	Mettere a fuoco il campione	P69
9	Eseguire l'aggiustamento diottrico	P70
10	Regolare la distanza interpupillare	P70
11	Mettere a fuoco e centrare il condensatore	P70
12	Portare nel percorso ottico un obbiettivo arbitrario	P71
13	Regolare il diaframma di apertura	P72
14	Mettere a fuoco il campione	P72
15	Regolare il diaframma di campo	P73
16	Regolare la luminosità	P73

Microscopia		
17	Osservare il campione	P74
18	Spengere il microscopio	P75

Microscopia motorizzata in Epi-fluorescenza

Preparazione		
1	Spengere la dia-illuminazione	P76
2	Chiudere l'otturatore e bloccare il percorso di illuminazione	P77
3	Portare nel percorso ottico il cubo filtro	P78
4	Aprire completamente i diaframmi di campo e di apertura del dispositivo di epi-fluorescenza	P79
5	Accendere la lampada al mercurio	P79
6	Per eseguire una microscopia con differenti ingrandimenti:	P80
7	Aprire l'otturatore	P81

Regolazione del fuoco e del sistema ottico		
8	Mettere a fuoco il campione	P82
9	Centrare il diaframma di campo del dispositivo Epi-fluorescenza	P82
10	Regolare il diaframma di campo del dispositivo Epi-fluorescenza	P83
11	Regolare la luminosità	P83

Microscopia		
12	Osservare il campione	P84
13	Spengere la lampada a mercurio	P84
14	Spengere il microscopio	P55

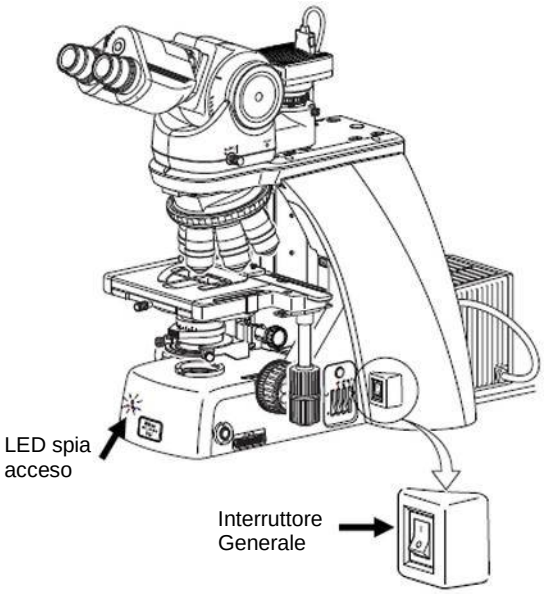
2 Microscopia in campo chiaro/scuro

Questo paragrafo descrive la procedura per la microscopia manuale in campo chiaro.
Le operazioni riguardanti la microscopia in campo scuro sono eseguite in modo simile alla microscopia in campo chiaro eccetto i punti indicati col simbolo (➔). Notare che la procedura di microscopia in campo scuro mostrata qui è un esempio quando si usa un condensatore universale.

Preparazione

1 **Accendere l'interruttore generale**

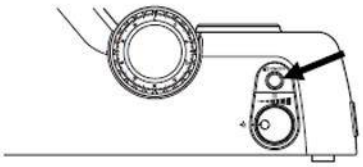
Premere l'interruttore nella posizione [**I**]. (Il LED di spia accensione, sul frontale del corpo principale, si accenderà).



Accendere il microscopio

2 **Accendere la dia-illuminazione**

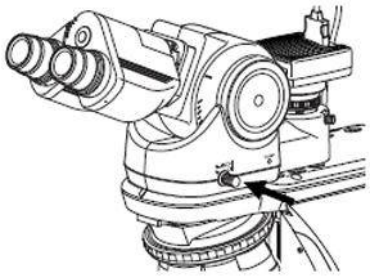
Premere l'interruttore ON/OFF della dia-illuminazione.



Accendere la lampada di dia-illuminazione accesa

3 Regolare il percorso ottico del tubo per dirigere il 100% della luce nella sezione binoculare

Premere nel percorso ottico la leva di commutazione sul tubo.



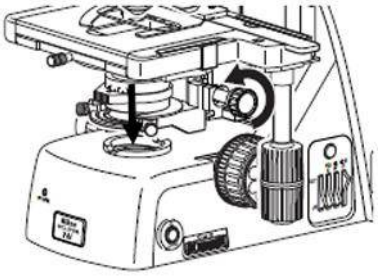
Premere la leva di commutazione percorso ottico per avere il 100% di luce nella binoculare.

4 Abbassare leggermente il condensatore dalla sua posizione più elevata

Ruotare la manopola di messa a fuoco del condensatore fino a quando esso non è posizionato al fine corsa superiore (in cui si ferma con un “click”) e quindi abbassarlo leggermente.

Note sull’azionamento del condensatore

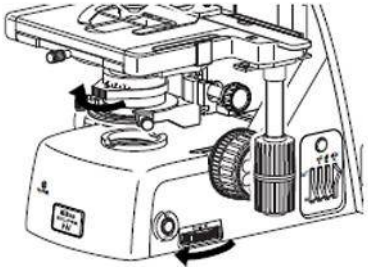
Quando si usa il condensatore girevole, portare la lente superiore nel percorso ottico. Quando si usa il condensatore “slide achro” estrarre lo slider.



Abbassare leggermente il condensatore rispetto alla sua posizione più elevata.

5 Aprire completamente i diaframmi di campo e di apertura

Ruotare il selettore del diaframma di campo e la leva del diaframma di apertura in senso orario per aprirli completamente.

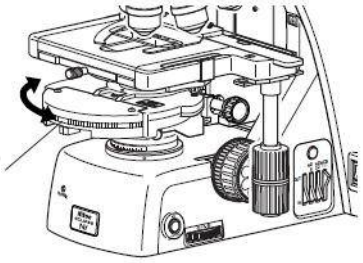


Aprire completamente i diaframmi di campo e di apertura.

➔ **Quando si esegue la microscopia in campo scuro, portare la torretta del condensatore nella posizione [O] (empty).**

(Questo non è richiesto per la microscopia in campo chiaro)

Ruotare la torretta del condensatore fino a quando il simbolo [O] appare in posizione frontale al fine di portare nel percorso ottico la posizione vuota.



<Microscopia in campo scuro>
Impostare il condensatore on posizione [O] (vuota)

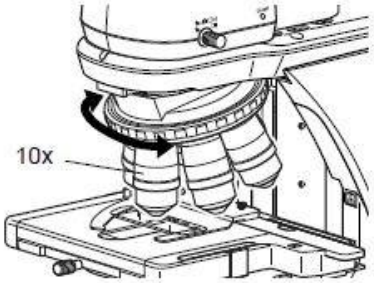
Regolazione del fuoco e del sistema ottico

Portare nel percorso ottico l'obbiettivo 10x

Ruotare il portaobiettivi per portare nel percorso ottico l'obbiettivo 10x.

Funzionamento del portaobiettivi

Ruotare il portaobiettivi fino al "click".



6

Mettere un campione sul tavolino e spostarlo per portare in vista il target

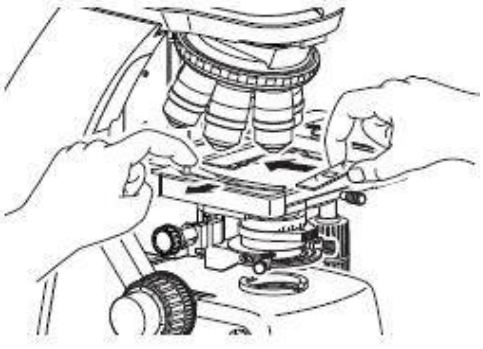
(1) Aprire la chela della parte mobile del portacampioni e posizionare il campione sullo stadio, riportare delicatamente indietro la chela per fissare il campione.

(2) Ruotare le manopole X/Y per muovere il tavolino e portare l'area di interesse nel percorso ottico. (Vedi Capitolo 3, paragrafo 5 "Portare l'area di interesse nel percorso ottico (Movimento orizzontale del tavolino. Rotazione)") (In tal modo il campione sigillato sotto il vetro di copertura sarà illuminato).

7

Slide non fluorescente, esente da distorsione

Usare slide e vetri di copertura non fluorescenti ed esenti da distorsione.



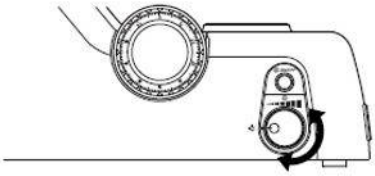
Vetro di copertura in alto

Montaggio del campione

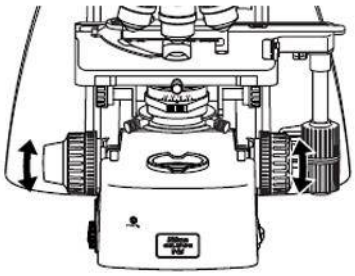
8 Mettere a fuoco il campione

(1) Guardare nell'oculare e aggiustare la luminosità ruotando il bottone di controllo del dia illuminatore in modo tale da ottenere una luminosità appropriata.

(2) Guardare nell'oculare e mettere a fuoco il campione ruotando le manopole di messa a fuoco grossolana (prima) e fine (Vedi capitolo 3, "2.4 Corretta procedura di messa a fuoco").



Regolazione della luminosità



Usare la manopola di messa a fuoco

Rifocamento

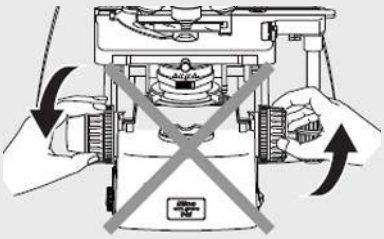
Ruotando l'anello di blocco messa a fuoco grossolana dopo aver messo a fuoco il campione, si può evitare che il tavolino venga ulteriormente sollevato col bottone di messa a fuoco grossolana. Il movimento del tavolino con la manopola di messa a fuoco fine non sarà bloccato.

Usando questa funzione è possibile eseguire il rifocamento con una semplice rotazione della manopola grossolana fine al limite. (vedi capitolo 3, "2.3 Rificamento").

Nota sul controllo della manopola di messa a fuoco

Evitare le seguenti azioni che potrebbero causare un malfunzionamento dell'apparecchiatura

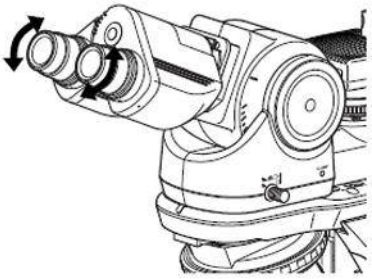
- Rotazione in sensi opposti delle manopole di messa a fuoco sinistra e destra.
- Rotazione della manopola di messa a fuoco grossolana oltre il limite di corsa.



Non ruotare le manopole di messa a fuoco in senso opposto!

10 Eseguire l'aggiustamento diottrico

Guardare nell'oculare destro con l'occhio destro e nell'oculare sinistro con l'occhio sinistro. Ruotare l'anello di regolazione diottrica di ciascun oculare per mettere a fuoco il campione. In questa operazione non vengono usate le manopole di messa a fuoco. (Vedi Capitolo 3, paragrafo "4 Aggiustamento diottrico").

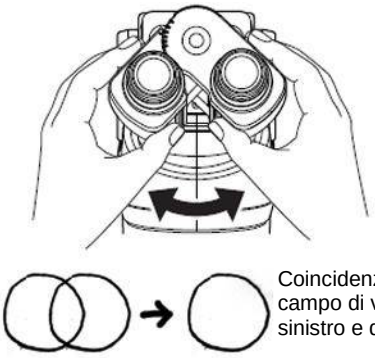


10 Regolazione della distanza interpupillare

Guardare in ambedue gli oculari e ruotare la parte binoculare per regolarne l'apertura fino a quando i campi di vista dell'occhio destro e sinistro non coincidono.

Suggerimento per l'esecuzione della regolazione della distanza interpupillare

Per facilitare l'aggiustamento, guardare negli oculari come se si stesse guardando un oggetto lontano.



Regolazione della distanza interpupillare

11 Mettere a fuoco e centrare il condensatore

(1) Ruotare il selettore del diaframma di campo per per chiuderlo al minimo e guardare negli oculari. Mettere a fuoco l'immagine del diaframma di campo usando la manopola di messa a fuoco del condensatore, quindi aggiustare la vite di centramento del condensatore per centrare l'immagine del diaframma nel campo di vista.

(2) Portare nel percorso ottico l'obbiettivo 40x per controllare la messa a fuoco e il centramento dell'immagine del diaframma di campo. Eseguire i necessari aggiustamenti.

(3) Ruotare il selettore del diaframma di campo e aggiustare l'immagine del diaframma di campo in modo tale che la sua dimensione sia prossima al campo di vista.

(Vedi Capitolo 3, paragrafo "5 Messa a fuoco e centramento del condensatore").

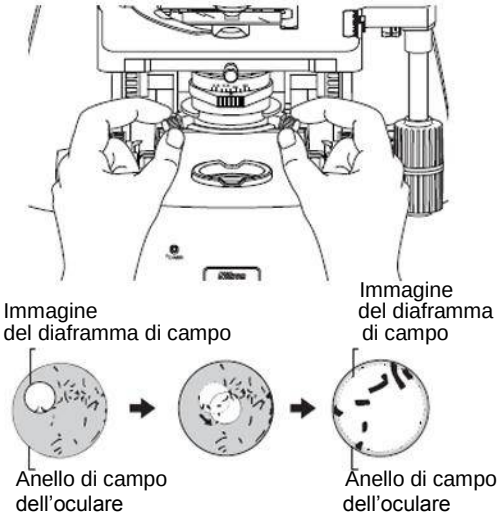


Immagine del diaframma di campo
Immagine del diaframma di campo
Anello di campo dell'oculare
Anello di campo dell'oculare

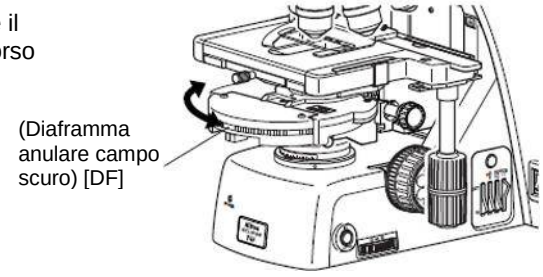
Messa a fuoco e centramento del condensatore

➔ Quando si esegue una microscopia in campo scuro, portare la torretta del condensatore in posizione [DF] (dark field annular diaphram). Ciò non è necessario per la microscopia in campo chiaro).

Ruotare la torretta del condensatore fino a quando non compare il simbolo [DF] di fronte per portare l'anello campo scuro nel percorso ottico.

Diaframma anulare campo scuro

Il diaframma anulare campo scuro può essere usato con qualunque obbiettivo con apertura numerica (NA) di 0.7 o inferiore. Notare tuttavia che gli obbiettivi 2x e 4x non sono supportati. Tali obbiettivi possono essere usati solo per microscopia in campo chiaro.



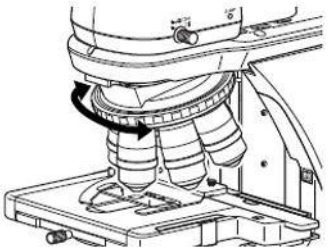
12 Portare nel percorso ottico un obbiettivo arbitrario

Ruotare il portaobiettivi per portare l'obbiettivo desiderato nel percorso ottico.

Immersione in olio

Quando si usa un obbiettivo del tipo ad immersione in olio, applicare l'olio specificato non fluorescente fra il campione e l'obbiettivo. (Vedi capitolo 3 "12 Immersione in olio/immersione in acqua").

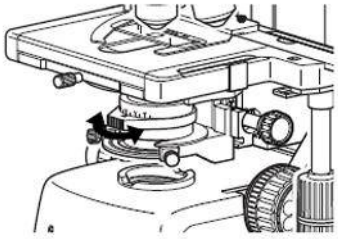
Poiché il condensatore universale non è per uso a secco NON applicare olio da immersione fra l'estremità sferica del condensatore e il campione.



Portare nel percorso un obbiettivo arbitrario

13 Aggiustare il diaframma di apertura

Ruotare la leva del diaframma di apertura del condensatore per aggiustare l'apertura. Essa deve essere aggiustata da circa il 70% a circa l'80% dell'apertura numerica dell'obbiettivo. (Vedi Capitolo 3, "6 Aggiustamento del diaframma di apertura")



Aggiustare il diaframma di apertura

Dimensione appropriata del diaframma di apertura

Di norma la giusta dimensione del diaframma di apertura è da 70 a 80% dell'apertura numerica dell'obbiettivo. Poiché un diaframma di apertura eccessivamente chiuso degrada la risoluzione dell'immagine, non è raccomandabile impostare il diaframma di apertura al di sotto del 60% dell'apertura numerica dell'obbiettivo.

Pupilla dell'obbiettivo

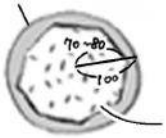
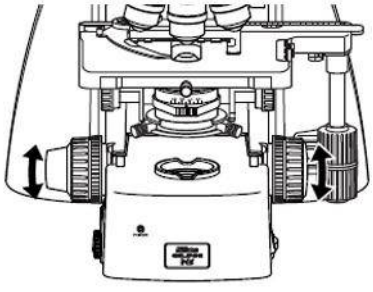


Immagine del diaframma di apertura

Quando aggiustare il diaframma di apertura

Assicurarsi di aggiustare il diaframma di apertura tutte le volte che si cambia l'obbiettivo.

➔ Per la microscopia in campo scuro, il diaframma di apertura non viene aggiustato in questa fase. Mantenerlo aperto.



Uso del bottone di messa a fuoco

14 Mettere a fuoco il campione

Ruotare le manopole di messa a fuoco per mettere a fuoco il campione (vedi capitolo 3 "2.4 Corretta procedura per la messa a fuoco

15 Aggiustare il diaframma di campo

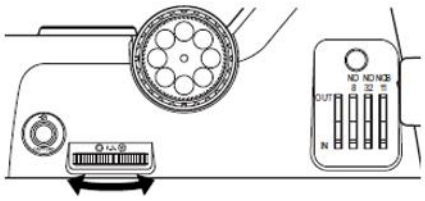
Ruotare il selettore del diaframma di campo per regolare il diaframma di campo in modo tale che quasi circoscriva il campo di vista.

Dimensione del diaframma di campo

Di norma il diaframma di campo dovrebbe essere regolato in modo tale che quasi circoscriva il campo di vista. Un diaframma di campo eccessivamente aperto provocherà l'ingresso di luci spurie nel campo di vista generando riflessioni indesiderate con conseguente riduzione del contrasto dell'immagine. Esso provocherà inoltre una decolorazione del campione su un'area più estesa.

Quando aggiustare il diaframma di campo

Assicurarsi di aggiustare il diaframma di campo tutte le volte che si cambia l'obbiettivo.



Aggiustare il diagramma di campo

Circoscrive il campo di vista

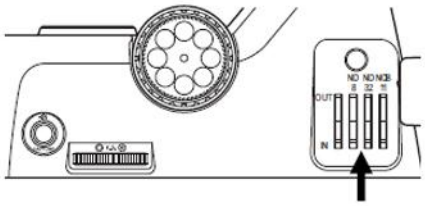
Dimensione appropriata del diaframma di campo

16 Regolare la luminosità

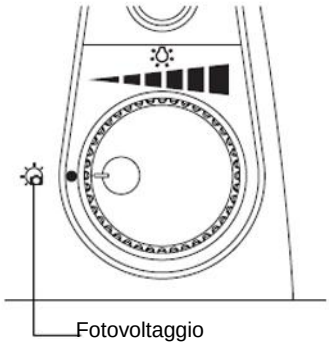
Regolare la luminosità dell'immagine usando il filtro ND. Premendo lo switch IN/OUT verso il lato [IN] (in basso) si porterà nel percorso ottico il filtro corrispondente. Notare che, sebbene la luminosità possa essere regolata ruotando il bottone di controllo luminosità del dia-illuminatore, ciò influirà sul colore dell'immagine. (Vedi capitolo 3, "1.2 Regolazione con i filtri ND").

Impostazione fotovoltaggio: per una migliore riproduzione del colore

Cambiando il voltaggio della lampada per regolare la luminosità si influisce sul colore temperatura della lampada e si altera il bilanciamento del colore dell'immagine. Incrementando il voltaggio si avrà una colorazione bluastra mentre riducendolo si avrà una colorazione rossastra. Se si desidera un'accurata riproduzione del colore impostare il bottone di controllo luminosità della lampada di dia-illuminazione in corrispondenza della marca per aggiustare la luminosità della lampada al fotovoltaggio adatto alla produzione dell'immagine. (Il valore del fotovoltaggio è regolato e impostato al momento della spedizione e l'utente non può modificarlo). Per regolare ulteriormente la luminosità senza cambiamenti di colore, portare il filtro NCB11 nella cassetta filtro nel percorso ottico. Usare i filtri ND per l'aggiustamento. (Vedi capitolo 3, "1 Aggiustamento della luminosità dell'immagine diascopica")



Regolazione luminosità col filtro ND



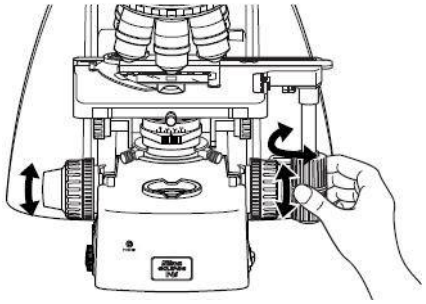
Impostazione fotovoltaggio

17 Osservazione del campione

Per osservare un'altra parte del campione ruotare le manopole del tavolino per trovare la posizione da osservare. Se il campione non è a fuoco, ruotare le apposite manopole per aggiustare la messa a fuoco.

Per osservare con un diverso ingrandimento ripetere i passi 12 e successivi con un altro obbiettivo.

Per commutare da microscopia in campo scuro a microscopia in campo chiaro ruotare la torretta del condensatore per portare la posizione [O] nel percorso ottico.



Abbagliamento quando si commuta metodo di microscopia

Quando si commuta da microscopia in campo scuro a microscopia in campo chiaro possono capitare bagliori nel campo di vista che possono provocare abbagliamento. Per evitare questo chiudere gli occhi o guardare fuori dagli oculari durante la commutazione.

Microscopia a basso ingrandimento

Per eseguire una microscopia in campo chiaro con obbiettivi 2x o 4x, montare la "lente ausiliaria 2-4x" sulla torretta e portarla nel percorso ottico quando si usa il condensatore universale. Quando si fa questo aprire completamente i diaframmi di apertura e di campo per avere il massimo grado di illuminazione.

Slider analizzatore NI-FA FL/DIC / slider dummy

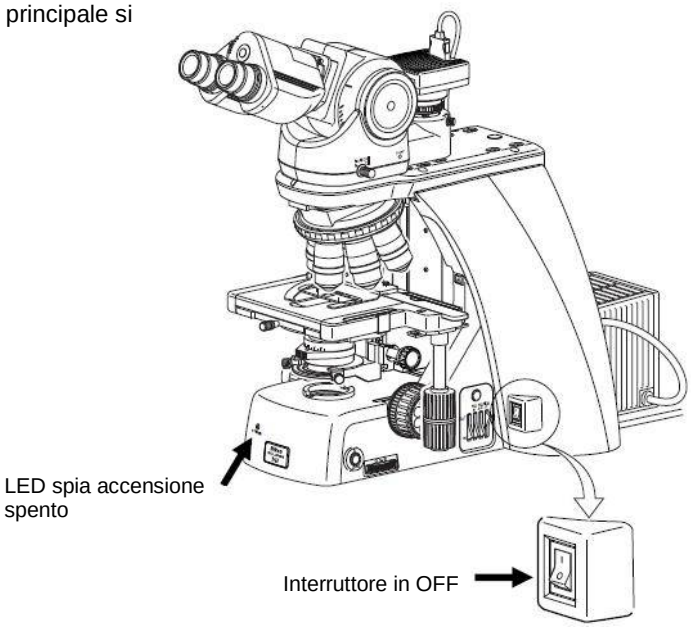
Se è montata sul microscopio una torretta cubo epi-fluorescenza, l'elemento ottico per la microscopia in epi fluorescenza montato sulla torretta cubo epi fluorescenza non è usato per la microscopia in campo chiaro. Inserire la posizione vuota della torretta nel percorso ottico.

Se è inserito uno slider analizzatore FL/DIC nella torretta cubo epi fluorescenza, tirarlo fino alla posizione del primo click di stop per rimuovere l'analizzatore dal percorso ottico. Se, invece dello slider analizzatore, è inserito uno slider dummy, non premerlo fino a fine corsa e assicurarsi di estrarlo fino al primo click. Se esso è inserito fino a fine corsa la periferia può risultare scura.

18 Spengere il microscopio

Spengere l'interruttore generale del microscopio (mettere nella posizione "**O**").

(Il LED spia accensione sul frontale del corpo principale si spengerà).



Spengere il microscopio

3 Microscopia in epi-fluorescenza

Questo paragrafo descrive la procedura per la microscopia in epi-fluorescenza manuale.

Sono descritte anche le precauzioni da osservare quando si commuta dalla microscopia in epi-fluorecsenza alla microscopia a interferenza differenziale o alla microscopia in contrasto di fase.

Trovare l'area di interesse sul campione con la dia-illuminazione e quindi prepararsi per la microscopia in epi-fluorescenza come descritto in "2 Microscopia in campo chiaro"

AVVERTENZA

La sorgente di luce usata con l'accessorio per epi-fluorescenza (lampada al mercurio) richiede una particolare cura nel maneggio a causa delle sue caratteristiche. Assicurarsi di aver acquisito su di essa una sufficiente conoscenza e di osservare tutte le avvertenza e le precauzioni descritte all'inizio del manuale di istruzioni.

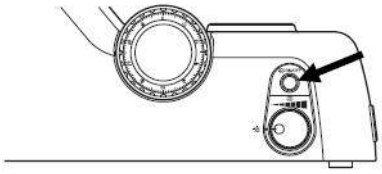
Preparazione

Trovare l'area di interesse sul campione con la dia-illuminazione come descritto in "2 Microscopia in campo chiaro" (Vedi capitolo 3 "14.10 Alre considerazioni concernenti la microscopia in Epi-fluorescenza")

1

Spengere la dia-illuminazione

Premere l'interruttore ON/OFF della DIA illuminazione.



Spengere la dia illuminazione

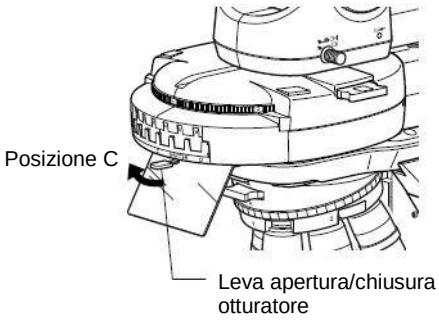
2

Chiudere l'otturatore e bloccare il percorso di illuminazione

Mettere la leva apertura/chiusura della torretta cubo epi fluorescenza nella posizione [C] per chiudere l'otturatore e bloccare il percorso ottico.

OTTURATORE

L'otturatore blocca l'illuminazione.
Se il campione è esposto continuamente alla forte luce della lampada a mercurio può danneggiarsi o scolorarsi.
Assicurarsi di aver chiuso l'otturatore quando si sospende la microscopia o quando si sospende la microscopia in epi-fluorescenza per eseguire la microscopia con luce diascopica.
Fare in modo di acquisire come abitudine l'esecuzione di questa operazione.



Chiudere l'otturatore

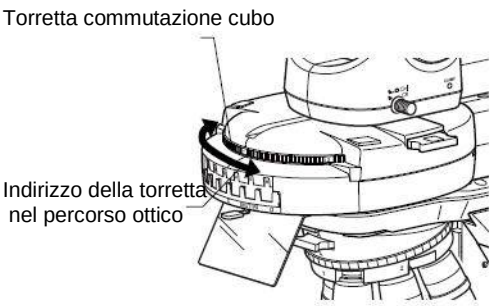
Gli otturatori per bloccare l'illuminazione in epifluorescenza

Gli otturatori sono incorporati nell'illuminatore HG a fibra precentrata così come nella torretta cubo epifluorescenza. Inoltre un EPI-otturatore motorizzato può essere installato sul microscopio. L'illuminazione in epi-fluorescenza può essere bloccata chiudendo uno di questi otturatori. (Vedi Capitolo 3, paragrafo 14.3 "Protezione del campione e prevenzione della decolorazione (Usando l'otturatore)").

3 Portare nel percorso ottico il cubo filtro

Portare nel percorso ottico il cubo filtro desiderato ruotando la torretta cubo.

Il cubo filtro nel percorso ottico è indicato dal numero della torretta in posizione frontale.



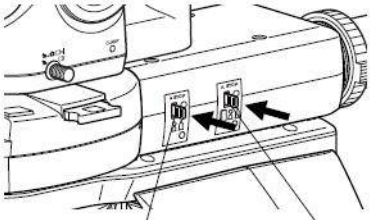
Portare il cubo filtro nel percorso ottico

Selezione di un cubo filtro

Un cubo filtro consiste in tre tipi di componenti ottici: un filtro eccitazione (filtro EX), un filtro barriera (filtro BA) e uno specchio dicroico (DM). Selezionare il cubo filtro con la combinazione appropriata di componenti ottici per le caratteristiche del campione e della colorazione in fluorescenza (vedi Capitolo 3, “14.2 Selezione dei filtri”).

4 Aprire completamente il diaframma di campo e il diaframma di apertura del dispositivo per epi-fluorescenza

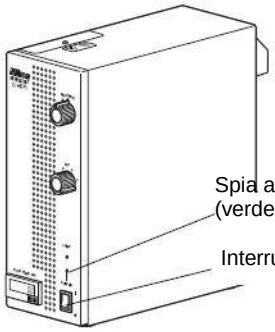
Spingere all’interno le leve del diaframma di campo e di apertura sul dispositivo per epi-illuminazione al fine di aprire completamente i due diaframmi.



Aprire completamente i diaframmi di campo e di apertura

5 Accendere la lampada al mercurio

Per i dettagli consultare il manuale dell’illuminatore

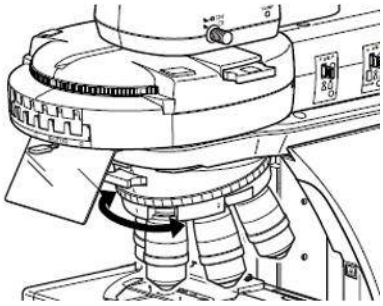


Lampada al mercurio accesa

6 Se si ha bisogno di un altro ingrandimento

Ruotare il portaobiettivi per portare l'obbiettivo desiderato nel percorso ottico.

Quando si usa un obbiettivo del tipo ad immersione in olio applicare l'olio da immersione specificato Nikon non fluorescente fra il campione e l'obbiettivo (vedi Capitolo 3, "12 Immersione in olio/immersione in acqua")



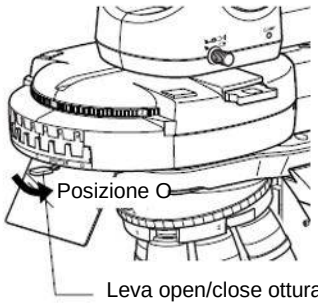
Introduzione di un obbiettivo arbitrario nel percorso ottico

7 Aprire l'otturatore

Per aprire l'otturatore mettere la leva open/close sulla torretta cubo epi-fluorescenza in posizione [O].

Altri otturatori

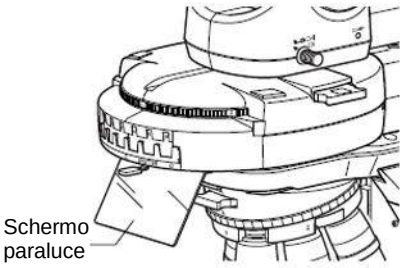
Se l'otturatore dell'illuminatore HG motorizzato a fibra precentrata o l'otturatore dell'EPI motorizzato sono chiusi, assicurarsi di aprirli.



Apertura dell'otturatore

Schermo paraluce sulla torretta cubo epi-fluorescenza

Lo schermo paraluce protegge gli occhi dell'osservatore dalla luce ultravioletta riflessa che è emessa dall'obbiettivo sul campione.



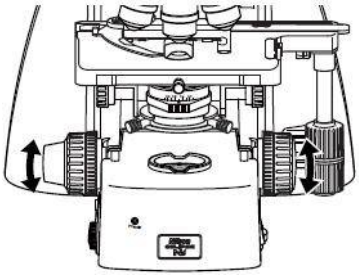
Messa a fuoco / regolazione del sistema ottico

8 Mettere a fuoco il campione

Ruotare la manopola di messa a fuoco per controllare la sezione di elevazione del microscopio. (Vedi Capitolo 3, “2.4 Appropriata procedura di messa a fuoco”).

Rifocamento

Ruotando l’anello di blocco messa a fuoco grossolana dopo aver messo a fuoco il campione, si può evitare che il tavolino venga ulteriormente sollevato col bottone di messa a fuoco grossolana. Il movimento del tavolino con la manopola di messa a fuoco fine non sarà bloccato.
Usando questa funzione è possibile eseguire il rifocamento con una semplice rotazione della manopola grossolana fino al limite. (vedi capitolo 3, “2.3 Rificamento”).

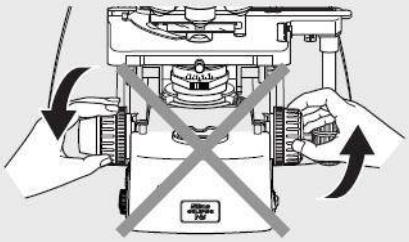


Mettere a fuoco con l’apposita manopola

Nota sul controllo della manopola di messa a fuoco

Evitare l’azione seguente che potrebbe causare un malfunzionamento dell’apparecchiatura

- Rotazione in sensi opposti delle manopole di messa a fuoco sinistra e destra
- Rotazione della manopola di messa a fuoco grossolana oltre il limite di corsa.



Non ruotare le manopole di messa a fuoco in senso opposto!

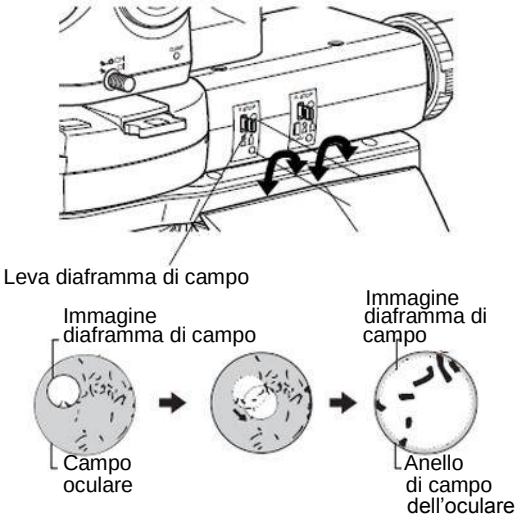
9 Centrare il diaframma del dispositivo epi-fluorescenza

(1) Usare la leva del diaframma di campo sul dispositivo per epi-fluorescenza per chiudere il diaframma di campo e quindi spostare l’immagine del diaframma di campo nel centro del campo di vista ruotando la vite di centramento mediante una chiave esagonale.

(2) Aprire il diaframma di campo per adattare il campo di vista e di nuovo ruotare la vite di centramento per spostare l’immagine del diaframma di campo nel centro del campo di vista.

Cambio ingrandimento

Mentre non è assolutamente essenziale centrare il diaframma di campo tutte le volte che si cambia l’obbiettivo, si dovrebbe comunque eseguire sempre un rapido controllo e fare i necessari aggiustamenti.



Centrare il diaframma di campo

10 Regolare il diaframma di campo del dispositivo per epi-fluorescenza

Usare la leva del diaframma di campo del dispositivo per epi-fluorescenza per regolare il diaframma stesso in modo tale che quasi circoscriva il campo di vista

Dimensione del diaframma di campo

Di norma il diaframma di campo dovrebbe essere regolato in modo tale che quasi circoscriva il campo di vista. Un diaframma di campo eccessivamente aperto provocherà l'ingresso di luci spurie nel campo di vista generando riflessioni indesiderate con conseguente riduzione del contrasto dell'immagine. Esso provocherà inoltre una decolorazione del campione su un'area più estesa.

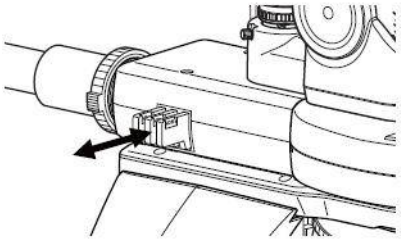
Circoscrive il campo di vista

Dimensione appropriata del diaframma di campo

Regolazione del diaframma di campo

Quando aggiustare il diaframma di apertura

Assicurarsi di aggiustare il diaframma di apertura tutte le volte che si cambia l'obbiettivo.



Regolazione della luminosità usando il filtro ND

11 Regolare la luminosità

Per regolare la luminosità usare i filtri ND sul dispositivo per epi-fluorescenza. Per l'aggiustamento della luminosità dell'immagine può essere usato anche il diaframma di apertura del dispositivo per epi-fluorescenza. Assicurarsi di centrare il diaframma di apertura prima dell'uso. (Vedi Capitolo 3, "14.4 "Regolazione della luminosità dell'immagine in fluorescenza (Usando i filtri ND e il diaframma di apertura)").

12 Osservazione del campione

Per osservare un'altra parte del campione ruotare le manopole del tavolino per trovare la posizione da osservare. Se il campione non è a fuoco ruotare le apposite manopole per regolare la messa a fuoco.

Per osservare con un diverso ingrandimento, ripetere i passi 6 e successivi con un altro obbiettivo.

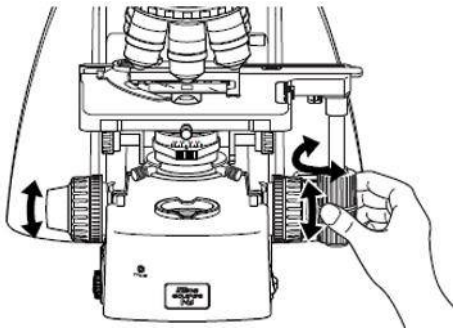


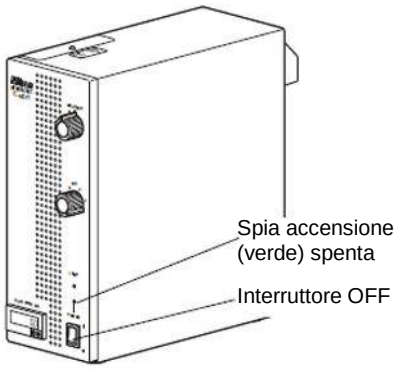
Immagine diascopica nella osservazione in fluorescenza

Per le osservazioni in fluorescenza premere in posizione OFF lo switch ON/OFF del dia-illuminatore del microscopio per far scomparire l'immagine diascopica.

Una brillante illuminazione dell'ambiente renderà difficile vedere l'immagine. Nikon raccomanda di mantenere la stanza al buio durante le osservazioni in fluorescenza.

Slider analizzatore NI-FA FL/DIC / slider dummy

Nella microscopia in epi fluorescenza lo slider analizzatore FL/DIC inserito nella torretta cubo epi fluorescenza non è usato. Se è inserito lo slider analizzatore FL/DIC, estrarlo fino alla posizione del primo click stop per rimuoverlo dal percorso ottico. Se invece dello slider analizzatore è inserito uno slider dummy, non spingerlo fino a fine corsa e assicurarsi di estrarlo di un click. Se è inserito fino a fine corsa la periferia può risultare scura.



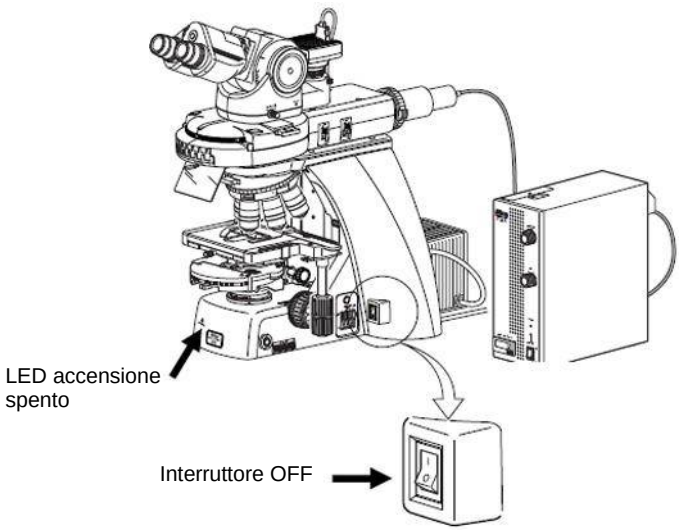
Spengere la lampada al mercurio

13 Spengere la lampada al mercurio

Per i dettagli consultare il manuale dell'illuminatore.

14 Spengere il microscopio

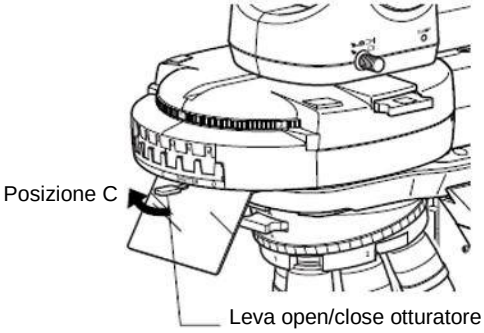
Spengere l'interruttori generali (mettere nella posizione "**O**") del microscopio. (Il LED di spia accensione si spengerà).



Spengere il microscopio

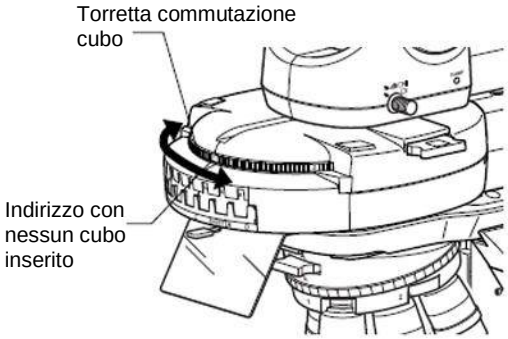
Passaggio da microscopia in epi-fluorescenza a microscopia in campo chiaro

(1) Quando si commuta da microscopia in epi-fluorescenza a microscopia in campo chiaro portare nella posizione [C] la leva open/close dell'otturatore della torretta cubo epifluorescenza per chiudere l'otturatore e bloccare il percorso ottico



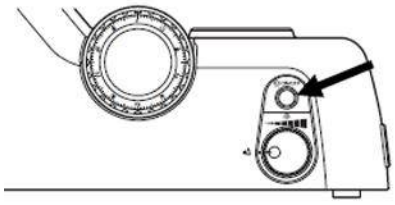
Chiudere l'otturatore

(2) Ruotare la torretta di commutazione cubo epi-fluorescenza fino alla posizione in cui non è inserito un cubo filtro nel percorso ottico.



Rimozione del cubo filtro

(3) Premere l'interruttore ON/OFF del dia-illuminatore per accendere la lampada.



Lampada dia illuminazione accesa

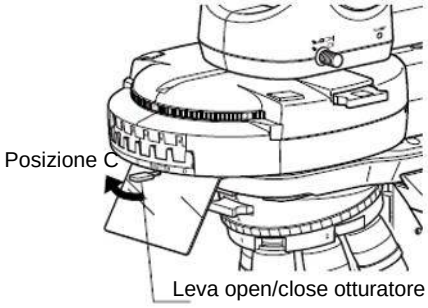
(4) Mettere a fuoco e centrare il condensatore. (Vedi Capitolo 3, "5 Messa a fuoco e centramento del condensatore"

Per le altre operazioni e precauzioni riferirsi al paragrafo 2 "Microscopia in campo chiaro/scuro"

Passaggio da microscopia a contrasto di interferenza differenziale a microscopia in epi-fluorescenza

I metodi di epi-fluorescenza e a contrasto di interferenza differenziale possono essere usati simultaneamente per coprire le rispettive carenze. Per esempio, quando si localizza il target, può essere usata la microscopia a contrasto di interferenza differenziale invece della microscopia in epi-fluorescenza che tende a decolorare il campione. Questo paragrafo fornisce dei suggerimenti per commutare dalla microscopia a contrasto di interferenza differenziale alla microscopia in epi-fluorescenza quando sono installati gli accessori per i due suddetti metodi. Vengono elencate anche delle precauzioni da seguire nell'uso simultaneo dei due metodi. Vedere anche il "5 Microscopia a contrasto di interferenza differenziale".

(1) Quando si accende l'interruttore (posizione ON) all'inizio di "5 Microscopia a contrasto di interferenza differenziale", non accendere l'illuminatore a fibra precentrata HG per epi-illuminazione. Verificare che l'otturatore del percorso dell'illuminazione epi-fluorescenza sia chiuso. L'otturatore è chiuso quando la leva open/close sulla torretta cubo epifluorescenza è in posizione [C].

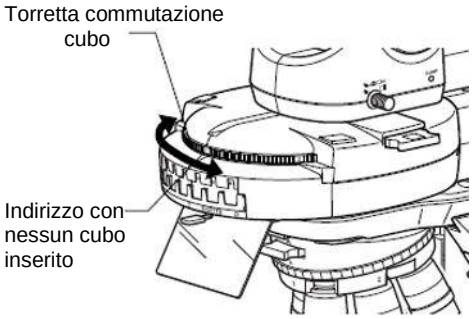


Chiudere l'otturatore

(2) Tutti gli elementi ottici necessari per la microscopia a contrasto di interferenza differenziale vengono rimossi simultaneamente dal percorso ottico nella procedura 7 di "4 Microscopia a contrasto di interferenza differenziale".

- Rimuovere il cubo filtro epi-fluorescenza dal percorso ottico e portare nel percorso ottico la posizione vuota.

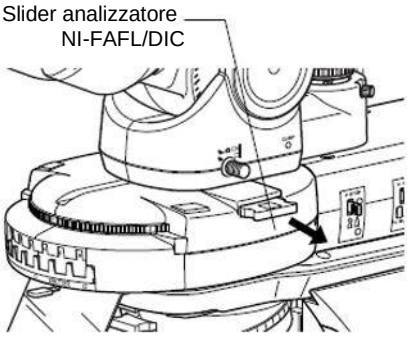
- Rimuovere anche dal percorso ottico lo slider analizzatore FL/DIC usato quando si esegue simultaneamente microscopia in epi-fluorescenza e contrasto di interferenza differenziale. Lo slider viene rimosso dal percorso ottico estraendolo fino allo 1° stop-click.



Rimuovere il cubo filtro

Mettere a fuoco in campo chiaro e regolare il sistema ottico in questo stato.

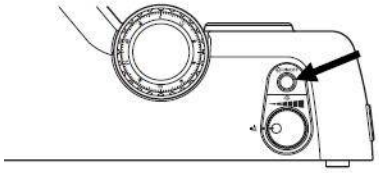
(3) Per regolare l'orientamento del polarizzatore e dell'analizzatore al passo 14 di "4 Microscopia a contrasto di interferenza differenziale", usare lo slider analizzatore FL/DIC montato sulla torretta cubo epi-fluorescenza invece dello slider analizzatore montato sul portaobiettivi. L'analizzatore si inserisce nel percorso ottico premendo lo slider fino alla posizione del secondo click-stop.



Rimuovere lo slider analizzatore FL/DIC

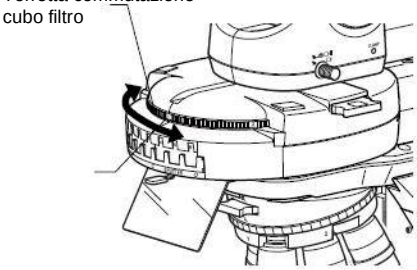
(4) Adesso, quando la microscopia a contrasto di interferenza differenziale è stata realizzata, passeremo alla preparazione della microscopia in epi-fluorescenza.

- Premere l'interruttore ON/OFF di dia-illuminazione per spengere la lampada e far scomparire l'immagine diascopica.



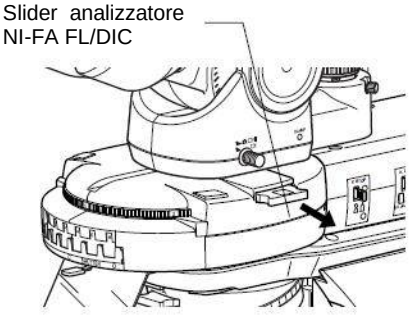
Lampada dia-illuminazione OFF

- Ruotare la torretta cubo epi-fluorescenza per portare il cubo filtro epi-fluorescenza desiderato nel percorso ottico.



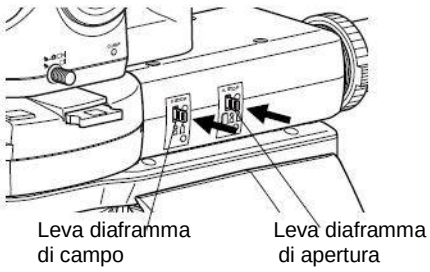
Portare il cubo filtro nel percorso ottico

- Rimuovere dal percorso ottico lo slider analizzatore FL/DIC.



Rimuovere lo slider analizzatore FL/DIC dal percorso ottico

- Aprire completamente i diaframmi di campo e di apertura del dispositivo epi-fluorescenza.

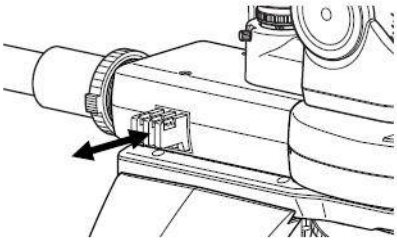


Aprire completamente i diaframmi di campo e di apertura

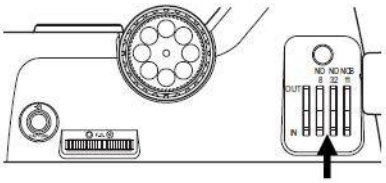
(5) Accendere l'illuminatore a fibra ottica precentrata HG e continuare dal punto 6 della procedura microscopia in epi-fluorescenza.

(6) Precauzioni nell'uso simultaneo della microscopia epi-fluorescenza/contrasto di interferenza differenziale.

- Se non appare l'immagine diascopica durante la microscopia in epi-fluorescenza, premere l'interruttore ON/OFF della dia-illuminazione per accendere la lampada.
- Reinserire nel percorso ottico lo slider analizzatore FL/DIC.
- Aggiustare la luminosità dell'immagine in fluorescenza con i filtri ND nel dispositivo per epi-fluorescenza e la luminosità dell'immagine in contrasto di interferenza differenziale con i filtri ND sull'unità principale. Durante questo aggiustamento la dia-illuminazione dovrebbe essere sufficientemente abbattuta con i filtri ND.



Regolazione della luminosità della lampada fluorescente

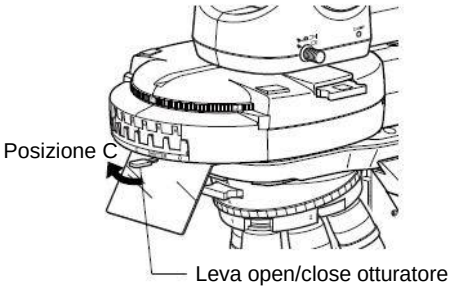


Regolazione della luminosità dell'immagine a interferenza differenziale

Passaggio da microscopia a contrasto di fase a microscopia in epi-fluorescenza

I metodi di epi-fluorescenza e contrasto di fase possono essere usati simultaneamente per coprire le rispettive carenze. Per esempio, quando si localizza il target, può essere usata la microscopia a contrasto di fase invece della microscopia in epi-fluorescenza che tende a decolorare il campione. Questo paragrafo fornisce dei suggerimenti per commutare dalla microscopia a contrasto di fase alla microscopia in epi-fluorescenza quando sono installati gli accessori per i due suddetti metodi. Vengono elencate anche delle precauzioni da seguire nell'uso simultaneo dei due metodi. Vedere anche "5 Microscopia a contrasto di fase".

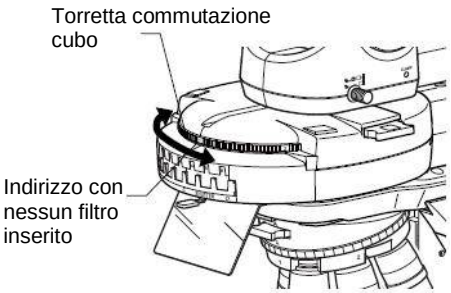
(1) Quando si accende l'interruttore al primo passo di "5 "Microscopia a contrasto di fase", non accendere l'illuminazione epi-fluorescenza a fibra precentrata HG. Verificare che l'otturatore del percorso dell'illuminazione epi-fluorescenza sia chiuso. L'otturatore è chiuso quando la leva open/close sulla torretta cubo epi-fluorescenza è in posizione [C].



Chiudere l'otturatore

(2) Al passo 5 in "5 Microscopia a contrasto di fase" impostare la posizione della torretta condensatore in [A] (vuoto). Contemporaneamente,

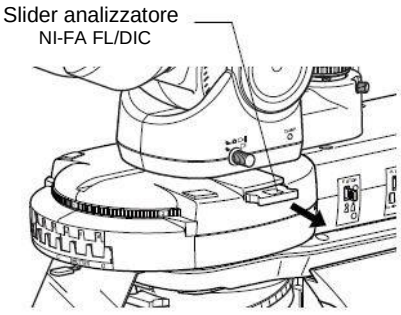
- Rimuovere il cubo filtro epi-fluorescenza dal percorso ottico e selezionare la posizione vuota.



Rimozione del cubo filtro

- Se lo slider analizzatore FL/DIC è nel percorso ottico rimuoverlo. Lo slider viene rimosso dal percorso ottico estraendolo di 1 stop-click.

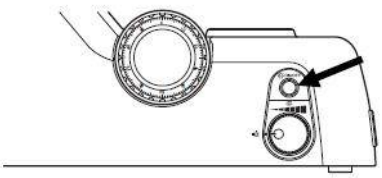
Mettere a fuoco in campo chiaro e regolare il sistema ottico in questo stato.



Rimozione dello slider analizzatore FL/DIC

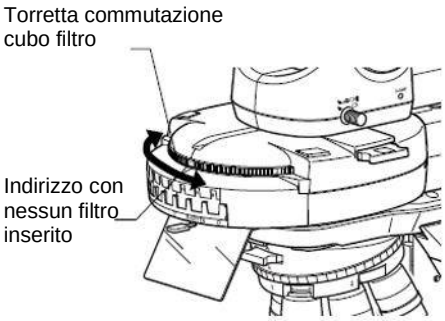
(3) Quando si è terminata la microscopia a contrasto di fase, passare alla microscopia in epi-fluorescenza.

- Premere l'interruttore ON/OFF di dia-illuminazione per spengere la lampada e far scomparire l'immagine diascopica.



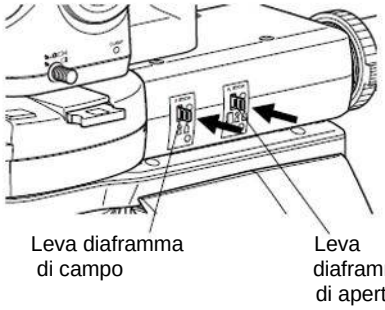
Lampada dia-illuminazione OFF

- Ruotare la torretta cubo epi-fluorescenza per portare nel percorso ottico il cubo filtro epi-fluorescenza desiderato.



Portare il cubo filtro nel percorso ottico

- Aprire completamente i diaframmi di campo e di apertura del dispositivo epi-fluorescenza.

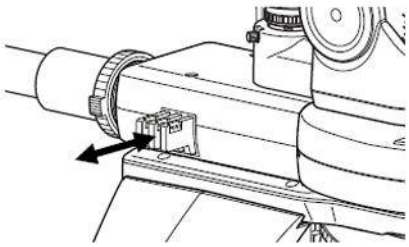


Aprire completamente i diaframmi di campo e di apertura

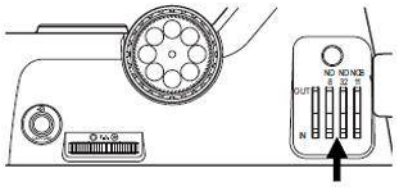
(4) Accendere l'illuminatore a fibra ottica precentrata HG e continuare dal punto 6 della microscopia in epi-fluorescenza.

(5) Precauzioni nell'uso simultaneo della microscopia epi-fluorescenza/contrasto di fase.

- Se non appare l'immagine diascopica durante la microscopia in epi-fluorescenza, premere l'interruttore ON/OFF della dia-illuminazione per accendere la lampada.
- Rimuovere il filtro GIF se esso è installato nella lente di campo.
- Aggiustare la luminosità dell'immagine in fluorescenza con i filtri ND nel dispositivo per epi-fluorescenza e la luminosità dell'immagine in contrasto di fase con i filtri ND sull'unità principale. Durante questo aggiustamento la dia-illuminazione dovrebbe essere sufficientemente abbattuta con un filtro ND.



Aggiustamento luminosità dell'immagine in fluorescenza



Aggiustamento luminosità immagine in contrasto di fase

4 Microscopia a contrasto di interferenza differenziale

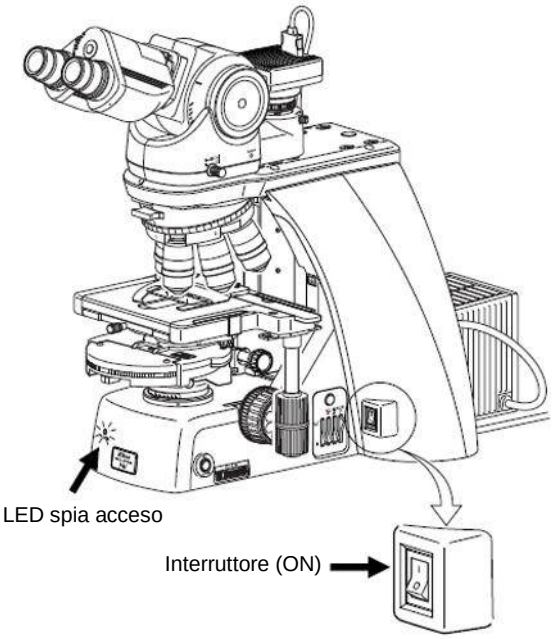
Questo paragrafo descrive la procedura per la microscopia a contrasto di interferenza differenziale manuale.

Preparazione

1

Accendere l'interruttore generale

Premere l'interruttore in [**I**] per accendere il microscopio. (Il LED di spia accensione sul frontale del corpo del microscopio si accenderà).

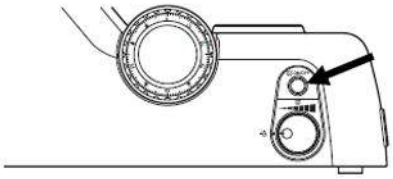


Accensione del microscopio

2

Accendere la lampada di dia-illuminazione per regolare la luminosità

Premere l'interruttore ON/OFF della dia-illuminazione.

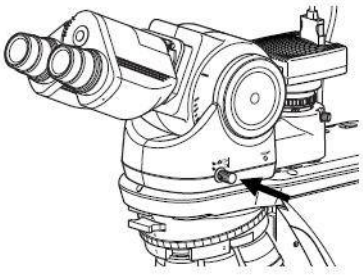


Accensione lampada di dia-illuminazione

3

Regolare il percorso ottico del tubo per dirigere il 100% della luce nella sezione binoculare

Inserire nel tubo la leva di commutazione percorso ottico.

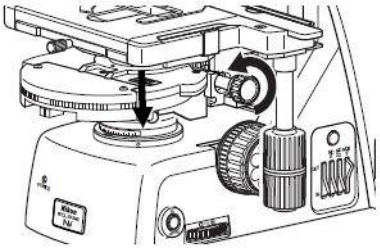


Inserzione della leva di commutazione del percorso ottico per avere 100% di luce nel binoculare.

4

Abbassare leggermente il condensatore dalla sua posizione più elevata

Ruotare la manopola di messa a fuoco del condensatore fino a quando esso non è posizionato al fine corsa superiore (in cui si ferma con un “click”) e quindi abbassarlo leggermente.



Abbassare leggermente il condensatore rispetto alla sua posizione più elevata usando la manopola di messa a fuoco

5

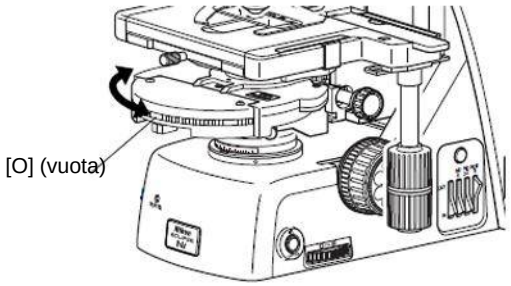
Aprire completamente i diaframmi di campo e di apertura

Ruotare il selettore del diaframma di campo e la leva del diaframma di apertura in senso orario per aprirli completamente.

Aprire completamente i diaframmi di campo e di apertura

6 Impostare la torretta del condensatore nella posizione [O] (vuota).

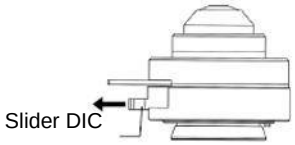
Ruotare la torretta condensatore fino a quando mom compare in posizione frontale il simbolo [O] per portare la posizione vuota nel percorso ottico.



Portare il condensatore nella posizione [O] (vuota)

Condensatore olio D-CUO

Quando si usa il condensatore olio DIC D-CUO, estrarre lo slider modulo DIC



Per D-CUO

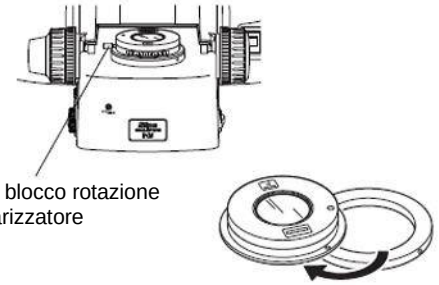
7 Rimuovere dal percorso ottico il polarizzatore, l'analizzatore, la lamina lambda e lo slider/modulo DIC

Allentare la vite di blocco rotazione del polarizzatore, ruotare la parte superiore dell'unità polarizzatore rotativo in senso orario per rimuovere il polarizzatore dal percorso ottico.

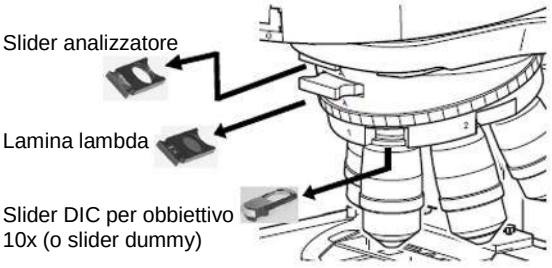
Se lo slider analizzatore o la lamina lambda sono nel percorso ottico, estrarli fino alla posizione del primo click-stop e rimuoverli dal percorso ottico.

L'operazione seguente è più facile se eseguita dopo il passo 8.

Estrarre lo slider DIC alla posizione dell'obbiettivo 10x dal percorso ottico e rimuoverlo.



Il polarizzatore viene rimosso dal percorso ottico



Rimozione dal percorso ottico degli elementi ottici per DIC

Microscopia a contrasto di interferenza differenziale

Preparazione							Aggiustamento fuoco/sistema ottico													Microscopia			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	■	■

Messa a fuoco e aggiustamento percorso ottico

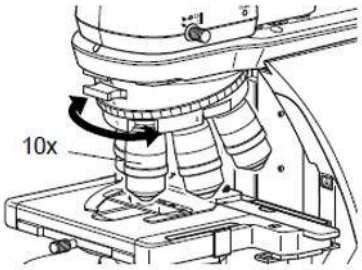
8

Portare nel percorso ottico l'obbiettivo 10x

Ruotare il portaobiettivi per portare nel percorso ottico l'obbiettivo 10x.

Funzionamento del portaobiettivi

Ruotare il portaobiettivi fino a click.



Portare l'obbiettivo 10x nel percorso ottico

9

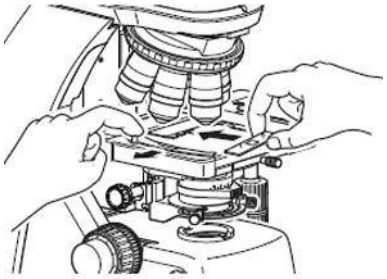
Mettere un campione sul tavolino e spostarlo per portare in vista il target

(1) Aprire la chela mobile del portacampioni e posizionare il campione sullo stadio, riportare delicatamente indietro la chela per fissare il campione.

(2) Ruotare le manopole X/Y per muovere il tavolino e portare l'area di interesse nel percorso ottico. (Vedi Capitolo 3, "3 Portare l'area di interesse nel percorso ottico (Movimento orizzontale del tavolino. Rotazione)") (In tal modo il campione sigillato sotto il vetro di copertura sarà illuminato).

Slide non fluorescente, esente da distorsione

Usare slide e vetri di copertura non fluorescenti ed esenti da distorsione.



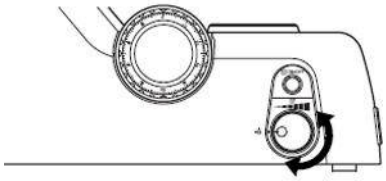
Vetro di copertura in alto

Montaggio del campione

10 Mettere a fuoco il campione

(1) Guardare negli oculari e regolare la luminosità ruotando il bottone di controllo luminosità della dia-illuminazione fino a quando non è stata raggiunta una luminosità appropriata.

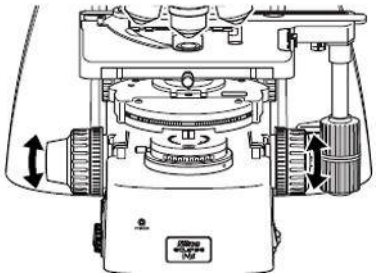
(2) Guardare negli oculari e mettere a fuoco il campione ruotando prima la manopola di messa a fuoco grossolana e quindi quella fine. (Vedi capitolo 3, “2.4 Procedura di messa a fuoco appropriata”).



Aggiustamento della luminosità

Rifuocamento

Ruotando l’anello di blocco messa a fuoco grossolana dopo aver messo a fuoco il campione, si può evitare che il tavolino venga ulteriormente sollevato col bottone di messa a fuoco grossolana. Il movimento del tavolino con la manopola di messa a fuoco fine non sarà bloccato.
Usando questa funzione è possibile eseguire il rifuocamento con una semplice rotazione della manopola grossolana fino al limite. (vedi capitolo 3, “2.3 Rificamento”).

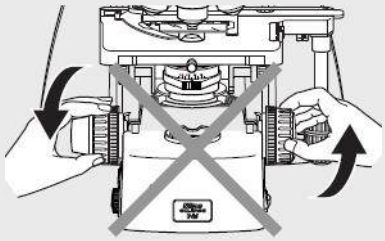


Uso delle manopole di messa a fuoco

Nota sul controllo delle manopole di messa a fuoco

Evitare l’azione seguente che potrebbe causare un malfunzionamento dell’apparecchiatura

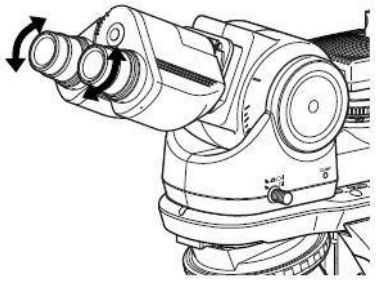
- Rotazione in sensi opposti delle manopole di messa a fuoco sinistra e destra
- Rotazione della manopola di messa a fuoco grossolana oltre il limite di corsa.



Non ruotare le manopole di messa a fuoco in senso opposto!

11 Eseguire l’aggiustamento diottrico

Guardare nell’oculare destro con l’occhio destro e nell’oculare sinistro con l’occhio sinistro. Ruotare l’anello di regolazione diottrica di ciascun oculare per mettere a fuoco il campione. In questa operazione non vengono usate le manopole di messa a fuoco. (Vedi Capitolo 3, “4 Aggiustamento diottrico”).



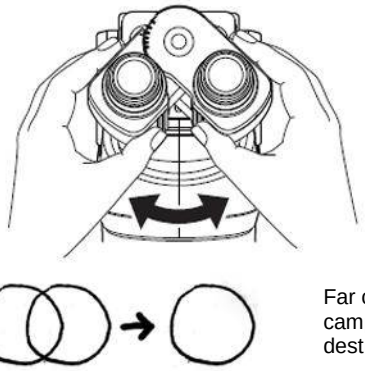
Aggiustamento diottrico

12 Aggiustare la distanza interpupillare

Guardare in ambedue gli oculari e ruotare la parte binoculare per regolarne l'apertura fino a quando i campi di vista dell'occhio destro e sinistro non coincidono.

Suggerimento per l'esecuzione della regolazione della distanza interpupillare

Per facilitare l'aggiustamento, guardare negli oculari come se si stesse guardando un oggetto lontano.



Aggiustare la distanza interpupillare

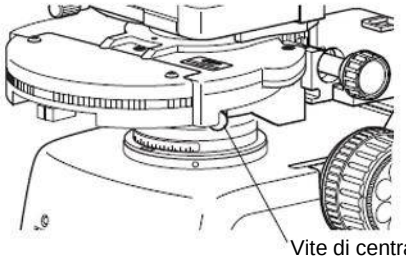
13 Mettere a fuoco e centrare il condensatore

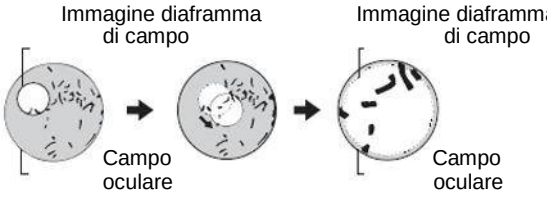
(1) Ruotare il selettore del diaframma di campo per portare al minimo il diaframma di campo e guardare negli oculari. Mettere a fuoco l'immagine del diaframma di campo usando la manopola di messa a fuoco del condensatore, quindi aggiustare la vite di centramento del condensatore per centrare l'immagine del diaframma nel campo di vista.

(2) Portare nel percorso ottico l'obbiettivo 40x per controllare la messa a fuoco e il centramento dell'immagine del diaframma di campo. Se necessario fare gli aggiustamenti.

(3) Ruotare il selettore del diaframma di campo e aggiustare l'immagine del diaframma di campo in modo tale che la sua dimensione sia prossima al campo di vista.

(Vedi Capitolo 3, "7 Messa a fuoco e centramento del condensatore").





Mettere a fuoco e centrare il condensatore

Condensatore olio DIC D-CUO

Quando si usa il condensatore DIC (olio) D-CUO assicurarsi di applicare olio sulla estremità del condensatore (Vedi Capitolo 3 "12 Immersione olio / immersione acqua")

14 Regolare l'orientamento (direzione di vibrazione) del polarizzatore e dell'analizzatore

Eseguire con cura questo passo poiché esso determinerà la prestazione di base della microscopia.

(1) Controllare che sia inserito l'obbiettivo 40x e la posizione del condensatore sia [O] (vuoto). In caso contrario inserire il 40x e impostare [O].

(2) Verificare che lo slider prisma DIC non sia nella posizione obbiettivo 40x sul portaobiettivi.

(3) Inserire lo slider analizzatore per riportare l'analizzatore nel percorso ottico.

(4) Ruotare il polarizzatore per riportarlo nel percorso ottico.

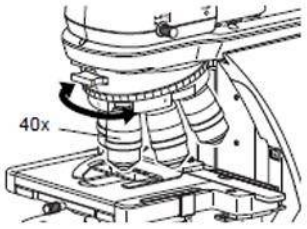
(5) Allentare la vite di blocco rotazione del polarizzatore per ruotarlo, allineare la linea col simbolo ● al simbolo ▲ e serrare la vite di blocco rotazione.

(6) Ruotare l'apposita manopola per spostare il tavolino e portare nel percorso ottico una zona in cui non sia presente il campione sotto il vetro di copertura.

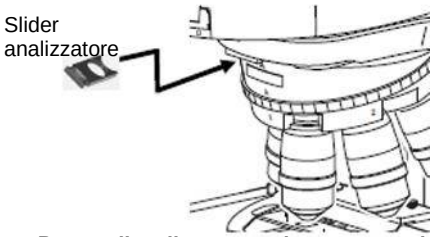
(7) Aggiustare l'angolo di attacco al microscopio del polarizzatore. Seguire uno dei seguenti metodi:

[Metodo 1] Allentare la vite di fissaggio dell'unità di polarizzazione con un cacciavite esagonale. Ruotare l'intera unità di polarizzazione mentre si guarda negli oculari e bloccarlo nel punto in cui il campo di vista è più scuro.

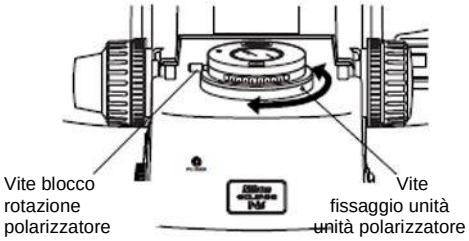
[Metodo 2] Rimuovere l'oculare e montare il telescopio di centramento con l'adattatore. Portare il diaframma di apertura al minimo e quindi ruotare la sezione oculare del telescopio di centramento per mettere a fuoco il diaframma di apertura.
Aprire il diaframma di apertura al massimo.
Allentare la vite di fissaggio dell'unità di polarizzazione con un cacciavite esagonale. Ruotare l'intera unità di polarizzazione e fermarsi quando si vede una croce scura.



Portare l'obbiettivo 40x nel percorso ottico



Portare l'analizzatore nel percorso ottico



Aggiustare la posizione del polarizzatore

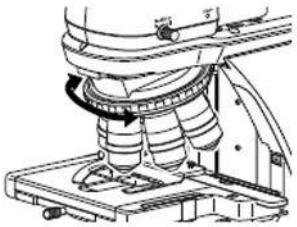
Croce scura

15 Portare nel percorso ottico un obbiettivo DIC arbitrario

Ruotare il portaobiettivi per portare l'obbiettivo desiderato nel percorso ottico.

Immersione in olio

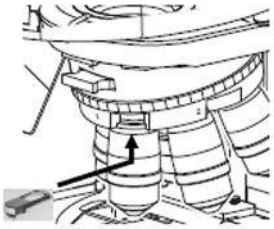
Quando si usa un obbiettivo del tipo ad immersione in olio, applicare l'olio specificato non fluorescente fra il campione e l'obbiettivo. (Vedi capitolo 3 "12 Immersione in olio/immersione in acqua").
Poiché il condensatore universale non è per uso a secco NON applicare olio da immersione fra l'estremità sferica del condensatore e il campione.



Portare nel percorso ottico un obbiettivo arbitrario

16 Montare lo slider DIC (per l'obbiettivo) sul portaobiettivi

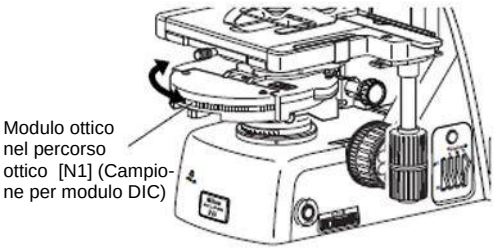
Selezionare uno slider DIC adatto all'obbiettivo e allo scopo della microscopia e inserirlo nello slot (immediatamente sopra all'obbiettivo) sul portaobiettivi. (Vedi Capitolo 3, "15.1 Suggerimenti per le operazioni di microscopia a contrasto di interferenza differenziale").



Portare nel percorso ottico lo spider prisma DIC per l'obbiettivo

17 Portare il modulo DIC (per il condensatore) nel percorso ottico

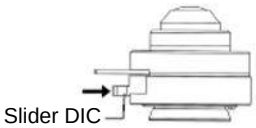
Ruotare la torretta del condensatore fino a portare il modulo DIC di fronte, In questo modo il modulo DIC sarà nel percorso ottico. Scegliere il modulo DIC appropriato per la microscopia che si ha intenzione di eseguire e per l'obbiettivo usato. (Vedi Capitolo 3, "15.1 Suggerimenti per le operazioni di microscopia a contrasto di interferenza differenziale").



Portare il modulo DIC per il condensatore nel percorso ottico

Condensatore olio D-CUO

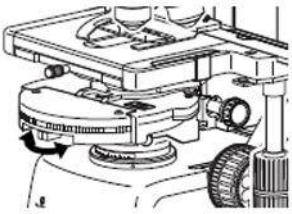
Quando si usa il condensatore (olio) DIC D-CUO, inserire uno slider modulo DIC adatto per l'obbiettivo e per lo scopo della microscopia che si deve eseguire nello slot sul condensatore.



Per D-CUO

18 Aggiustare il diaframma di apertura

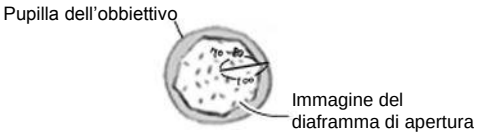
Ruotare la leva del diaframma di apertura del condensatore per aggiustare l'apertura. L'apertura deve essere aggiustata a circa il 70 – 80% dell'apertura numerica dell'obbiettivo. (Vedi Capitolo 3, "8 Aggiustamento del diaframma di apertura").



Aggiustamento del diaframma di apertura

Dimensione appropriata del diaframma di apertura

Di norma la giusta dimensione del diaframma di apertura è da 70 a 80% dell'apertura numerica dell'obbiettivo. Poiché un diaframma di apertura eccessivamente chiuso degrada la risoluzione dell'immagine, non è raccomandabile impostare il diaframma di apertura al di sotto del 60% dell'apertura numerica dell'obbiettivo.



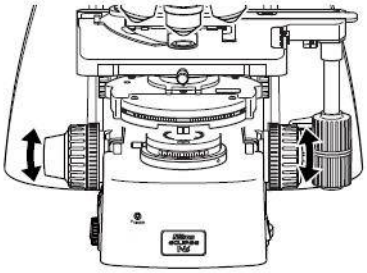
Dimensione corretta del diaframma di apertura

Quando aggiustare il diaframma di apertura

Assicurarsi di aggiustare il diaframma di apertura tutte le volte che si cambia l'obbiettivo.

19 Mettere a fuoco il campione

Ruotare le manopole di messa a fuoco per mettere a fuoco il campione. (Vedi Capitolo 3, “2.4 Procedura appropriata di messa a fuoco”).



Messa a fuoco del campione con le apposite manopole

20 Aggiustare il diaframma di campo

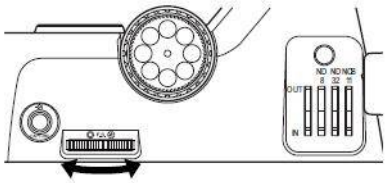
Ruotare il selettore del diaframma di campo per regolare il diaframma di campo in modo tale che all’incirca circoscriva il campo di vista

Dimensione del diaframma di campo

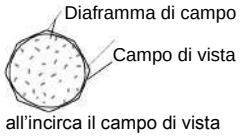
Di norma il diaframma di campo dovrebbe essere regolato in modo tale che circoscriva all’incirca il campo di vista. Un diaframma di campo eccessivamente aperto provocherà l’ingresso di luci spurie nel campo di vista generando riflessioni indesiderate con conseguente riduzione del contrasto dell’immagine. Esso provocherà inoltre una decolorazione del campione su un’area più estesa.

Quando aggiustare il diaframma di campo

Assicurarsi di aggiustare il diaframma di campo tutte le volte che si cambia l’obbiettivo.



Aggiustamento del diaframma di campo

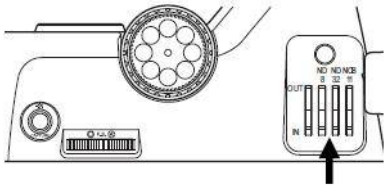


Circoscrive all’incirca il campo di vista

Dimensione corretta del diaframma di campo

21 Regolazione della luminosità

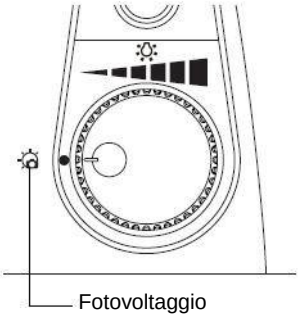
Regolare la luminosità dell'immagine usando il filtro ND. Premendo lo switch IN/OUT verso il lato [IN] (in basso) si porterà nel percorso ottico il filtro corrispondente. Notare che, la luminosità può essere regolata anche ruotando il bottone di controllo luminosità del dia-illuminatore ma ciò influirà sul colore dell'immagine. (Vedi capitolo 3, "1.2 Regolazione con i filtri ND").



Aggiustare la luminosità con i filtri ND

Impostazione fotovoltaggio: per una migliore riproduzione del colore

Cambiando il voltaggio della lampada per regolare la luminosità si influisce sul colore temperatura della lampada e si altera il bilanciamento del colore dell'immagine. Incrementando il voltaggio si avrà una colorazione bluastra mentre riducendolo si avrà una colorazione rossastra. Se si desidera un'accurata riproduzione del colore impostare il bottone di controllo luminosità della lampada di dia-illuminazione in corrispondenza della marca per aggiustare la luminosità della lampada al fotovoltaggio adatto alla produzione dell'immagine. (Il valore del fotovoltaggio è regolato e impostato al momento della spedizione e l'utente non può modificarlo). Per regolare ulteriormente la luminosità senza cambiamenti di colore, portare il filtro NCB11 nella cassetta filtro nel percorso ottico. Usare i filtri ND per l'aggiustamento. (Vedi capitolo 3, "1 Aggiustamento della luminosità dell'immagine diascopica")



Impostazione fotovoltaggio

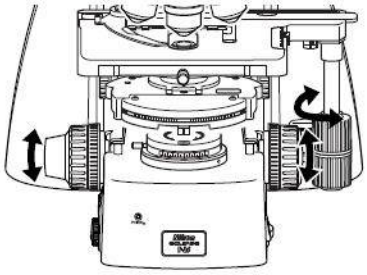
Osservazione del campione

22

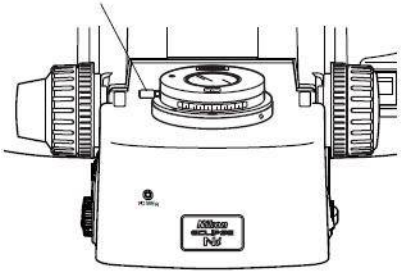
Osservare il campione

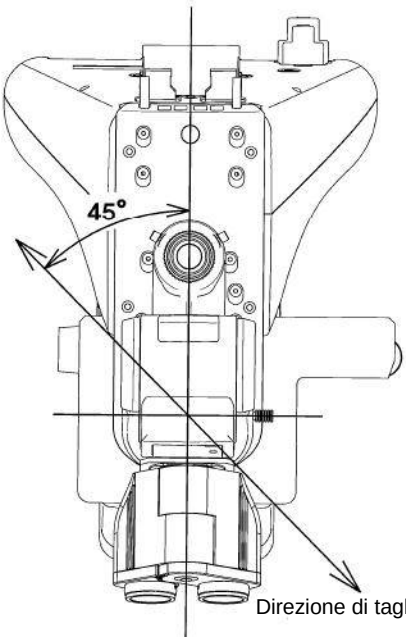
Per osservare un'altra parte del campione, ruotare le manopole del tavolino per cercare la posizione da osservare. Se il campione non risulta a fuoco, ruotare le apposite manopole per aggiustare la messa a fuoco.

Per osservare con differente ingrandimento, ripetere i passi 15 e successivi con un altro obbiettivo.



Vite di blocco rotazione del polarizzatore





Per cambiare il contrasto ruotare il polarizzatore

Regolazione del contrasto

Per aggiustare il contrasto, allentare la vite di blocco rotazione del polarizzatore e ruotare il polarizzatore.

Aggiustando lo sfondo del campo di vista con un colore grigio chiaro si otterrà un alto contrasto per la microscopia.

Il contrasto è applicato nella direzione del taglio (vedi lo schema). Usando un tavolino ceramico rotante è possibile ruotare il tavolino per aggiustare l'orientamento del campione, allineando così la sezione su cui si vuole evidenziare il contrasto con la direzione di taglio.

Microscopia con contrasto di colore

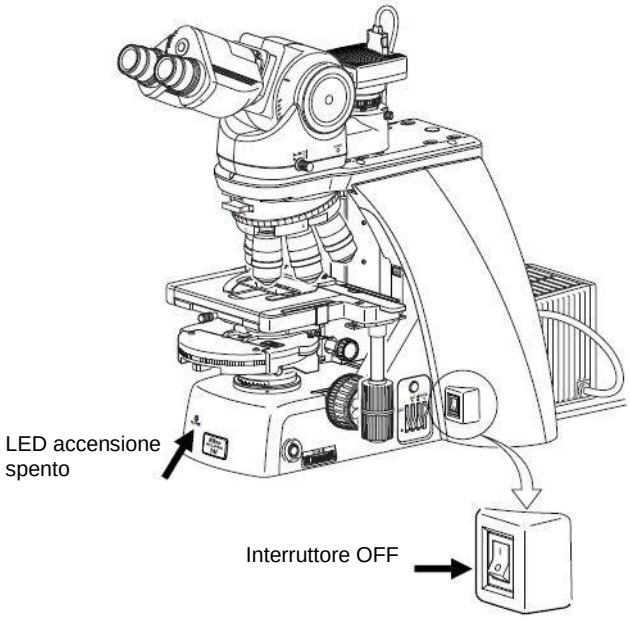
Ponendo un filtro NCB nel percorso ottico e inserendo la lamina lambda D-LP nell'apposito slot sul portaobiettivi DIC si cambierà lo sfondo del campo di vista in un colore delicato, consentendo le osservazioni con alto contrasto di colore. Il colore di interferenza viene visualizzato sulla base di cambiamenti dell'indice di rifrazione e/o dello spessore del campione.

Slider analizzatore NI-FA FL/DIC /slider dummy

Se sul microscopio è installata una torretta cubo epifluorescenza è possibile usare lo slider FL/DIC montato sulla torretta cubo per fare microscopia a contrasto di interferenza differenziale. Comunque, lo slider DIC installato sul portaobbiettivi, si deve tirare lo slider fino alla posizione del primo click stop per rimuovere l'analizzatore dal percorso ottico. Se invece dello spider analizzatore è inserito uno slider dummy, non inserirlo fino a fondo corsa e assicurarsi di estrarlo di un click. Se viene inserito fino a fondo corsa la periferia può risultare scura.

23 Spengere il microscopio

Spengere l'interruttore generale (mettere nella posizione "**O**") del microscopio. (Il LED di spia accensione si spengerà).

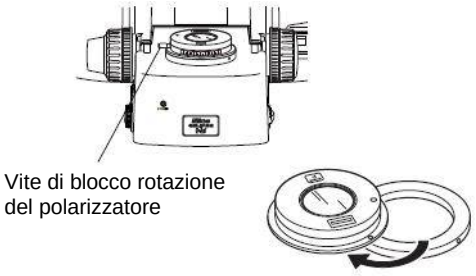


Spengere il microscopio

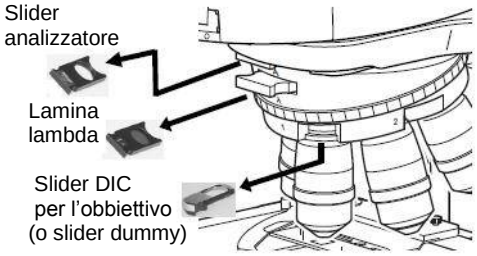
Passaggio da microscopia a contrasto di interferenza differenziale a microscopia in campo chiaro

Allentare la vite di blocco rotazione del polarizzatore, ruotare la parte superiore del polarizzatore rotante in direzione oraria allo scopo di rimuovere il polarizzatore dal percorso ottico.

(1) Se lo slider analizzatore o la lamina lambda sono nel percorso ottico, estrarli fino alla posizione del primo click-stop e rimuoverli dal percorso ottico.
Estrarre lo slider DIC relativo alla posizione dell'obbiettivo dal percorso ottico e rimuoverlo.



Il polarizzatore è rimosso dal percorso ottico

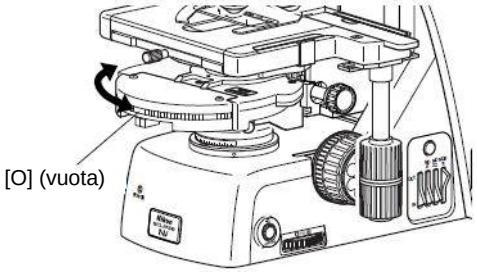


Rimozione dal percorso ottico degli elementi ottici per DIC

(2) Ruotare la torretta del condensatore per portare la posizione [O] (vuota) nel percorso ottico.

Microscopia a basso ingrandimento

Per eseguire una microscopia in campo chiaro con obbiettivi 2x o 4x, montare la "lente ausiliaria 2-4x" sulla torretta del condensatore e introdurla nel percorso ottico. Quando si fa questo aprire completamente i diaframmi di apertura e di campo per avere il massimo grado di illuminazione.



Spostare il condensatore nella posizione [O] (vuota)

Per le altre operazioni e precauzioni riferirsi al paragrafo 2 "Microscopia in campo chiaro/scuro"

Passaggio da microscopia a contrasto di interferenza differenziale a microscopia in epi-fluorescenza

Vedi la parte terminale del paragrafo 3 "Microscopia in epi-fluorescenza

5 Microscopia a contrasto di fase

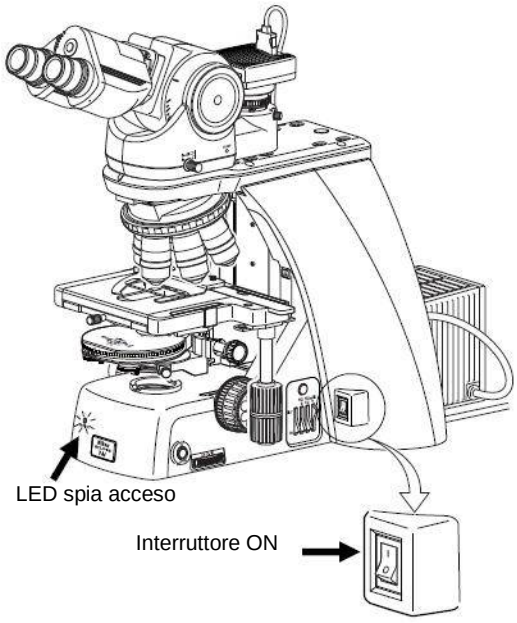
Questo paragrafo descrive la procedura per la microscopia manuale a contrasto di fase.

Preparazione

1

Accendere l'interruttore generale

Premere l'interruttore in [**I**] per accendere il microscopio.
(Il LED spia accensione sul frontale del corpo principale si accenderà)

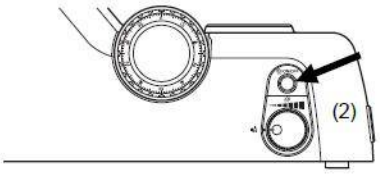


Accensione del microscopio

2

Accendere la dia-illuminazione

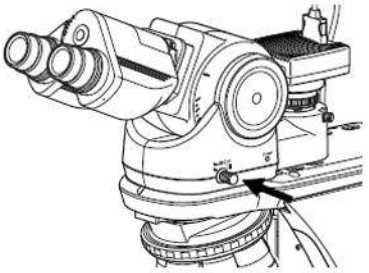
Premere l'interruttore ON/OFF della dia-illuminazione



Lampada dia illuminazione accesa

3 Adattare il percorso ottico del tubo per dirigere il 100% della luce nella sezione binoculare

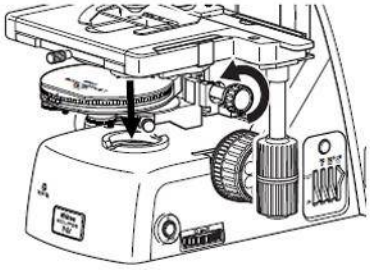
Premere la leva di commutazione percorso ottico sul tubo.



Premere la leva di commutazione percorso ottico per avere io 100% nella sezione binoculare

4 Abbassare leggermente il condensatore dalla sua posizione più elevata

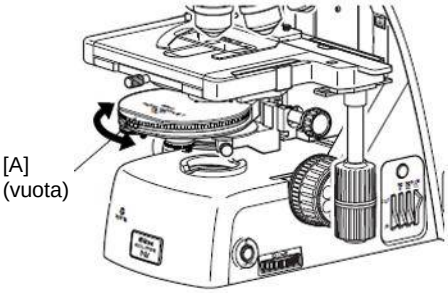
Ruotare la manopola di messa a fuoco del condensatore fino a quando esso non è posizionato al fine corsa superiore (in cui si ferma con un “click”) e quindi abbassarlo leggermente.



Usando la manopola di messa a fuoco abbassare leggermente il condensatore rispetto alla sua posizione più elevata

5 Portare la torretta del condensatore nella posizione [A] (vuota)

Ruotare la torretta del condensatore fino a quando il simbolo [A] non compare di fronte per portare la posizione vuota nel percorso ottico.



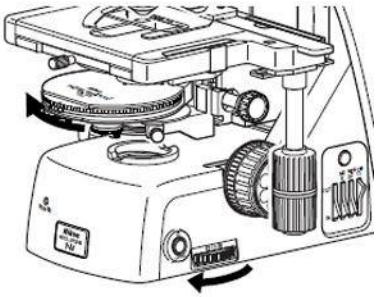
Portare il condensatore nella posizione [A] (vuota)

Condensatore universale

Quando si esegue una microscopia a contrato di fase usando un condensatore universale, portare la torretta nella posizione [O] (vuota).

6 Aprire completamente i diaframmi di campo e di apertura

Ruotare il selettore del diaframma di campo e la leva del diaframma di apertura in senso orario per aprirli completamente.



Aprire completamente i diaframmi di campo e di apertura.

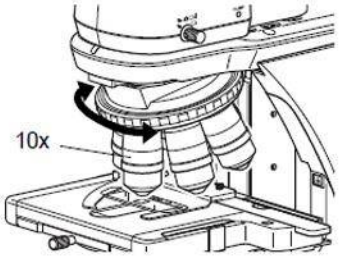
Aggiustamento del fuoco e del sistema ottico

7 Portare nel percorso ottico l'obbiettivo 10x

Ruotare il porta obbiettivi per portare l'obbiettivo 10x nel percorso ottico.

Funzionamento del portaobbiettivi

Ruotare il portaobbiettivi fino al click.



Portare nel percorso ottico l'obbiettivo 10x

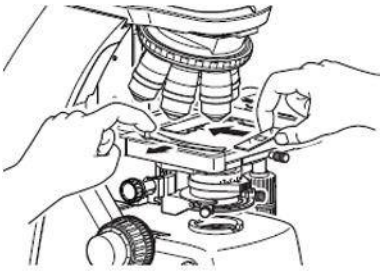
8 Mettere un campione sul tavolino e spostarlo per portare in vista il target

(1) Aprire la chela della parte mobile del portacampioni e posizionare il campione sullo stadio, riportare delicatamente indietro la chela per fissare il campione.

(2) Ruotare le manopole X/Y per muovere il tavolino e portare l'area di interesse nel percorso ottico. (Vedi Capitolo 3, "3 Portare l'area di interesse nel percorso ottico (Movimento orizzontale del tavolino. Rotazione") (In tal modo il campione sigillato sotto il vetro di copertura sarà illuminato).

Slide non fluorescente, esente da distorsione

Usare slide e vetri di copertura non fluorescenti ed esenti da distorsione.



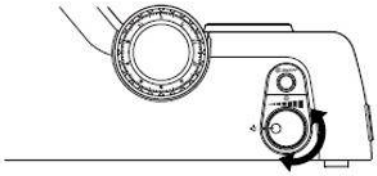
Vetro di copertura sopra

Sistemazione del campione

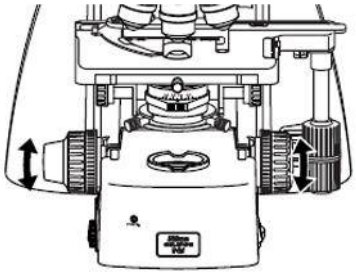
9 Mettere a fuoco il campione

(1) Guardare nell'oculare e aggiustare la luminosità ruotando il bottone di controllo del dia illuminatore in modo tale da ottenere una luminosità appropriata.

(2) Guardare nell'oculare e mettere a fuoco il campione ruotando le manopole di messa a fuoco grossolana (prima) e fine (Vedi capitolo 3, "2.4 Corretta procedura di messa a fuoco").



Aggiustamento lominosità



Messa a fuoco tramite le apposite manopole

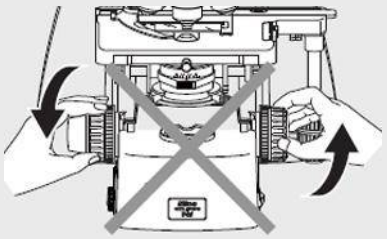
Rifuocamento

Ruotando l'anello di blocco messa a fuoco grossolana dopo aver messo a fuoco il campione, si può evitare che il tavolino venga ulteriormente sollevato col bottone di messa a fuoco grossolana. Il movimento del tavolino con la manopola di messa a fuoco fine non sarà bloccato.
Usando questa funzione è possibile eseguire il rifuocamento con una semplice rotazione della manopola grossolana fino al limite. (vedi capitolo 3, "2.3 Rifuocamento").

Nota sul controllo della manopola di messa a fuoco

Evitare le seguenti azioni che potrebbero causare un malfunzionamento dell'apparecchiatura

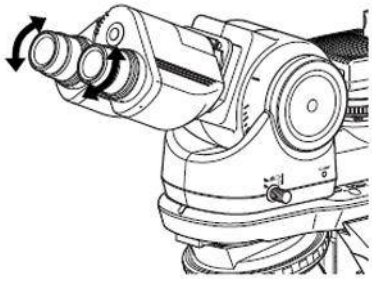
- Rotazione in sensi opposti delle manopole di messa a fuoco sinistra e destra.
- Rotazione della manopola di messa a fuoco grossolana oltre il limite di corsa.



Non ruotare le manopole di messa a fuoco in senso opposto!

10 Eseguire l'aggiustamento diottrico

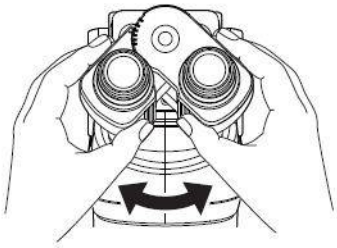
Guardare nell'oculare destro con l'occhio destro e nell'oculare sinistro con l'occhio sinistro. Ruotare l'anello di regolazione diottrica di ciascun oculare per mettere a fuoco il campione. In questa operazione non vengono usate le manopole di messa a fuoco. (Vedi Capitolo 3, "4 Aggiustamento diottrico").

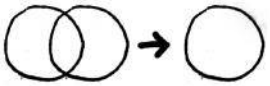


Aggiustamento diottrico

11 Aggiustamento della distanza interpupillare

Guardare in ambedue gli oculari e ruotare la parte binoculare per regolarne l'apertura fino a quando i campi di vista dell'occhio destro e sinistro non coincidono.





Coincidenza del campo di vista sinistro e destro

Suggerimento per l'esecuzione della regolazione della distanza interpupillare

Per facilitare l'aggiustamento, guardare negli oculari come se si stesse guardando un oggetto lontano.

12 Mettere a fuoco e centrare il condensatore

(1) Ruotare il selettore del diaframma di campo per per chiuderlo al minimo e guardare negli oculari. Mettere a fuoco l'immagine del diaframma di campo usando la manopola di messa a fuoco del condensatore, quindi aggiustare la vite di centramento del condensatore per centrare l'immagine del diaframma nel campo di vista.

(2) Portare nel percorso ottico l'obbiettivo 40x per controllare la messa a fuoco e il centramento dell'immagine del diaframma di campo. Eseguire i necessari aggiustamenti.

(3) Ruotare il selettore del diaframma di campo e aggiustare l'immagine del diaframma di campo in modo tale che la sua dimensione sia prossima al campo di vista.

(Vedi Capitolo 3, "5 Messa a fuoco e centramento del condensatore").

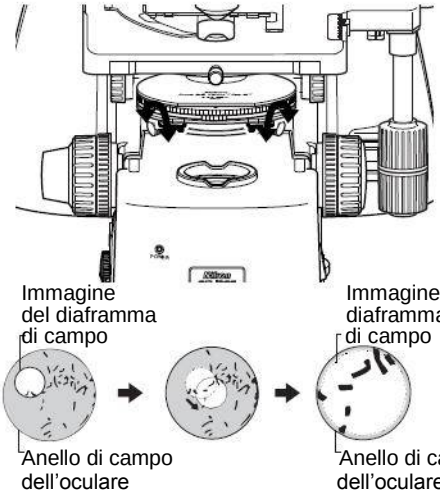
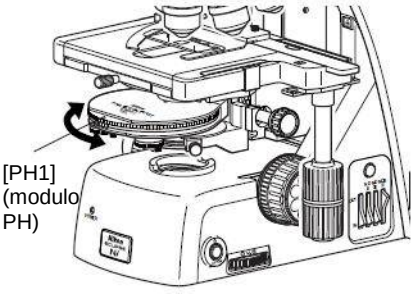


Immagine del diaframma di campo
Immagine del diaframma di campo
Anello di campo dell'oculare
Anello di campo dell'oculare

Messa a fuoco e centramento del condensatore

13 Portare nel percorso ottico il modulo Ph (Ph1)

Ruotare la torretta del condensatore fino a quando il simbolo [Ph1] non compare in posizione frontale per portare nel percorso ottico il modulo PH. Per maggiori informazioni sul modulo PH vedi capitolo 3 "16.1 Suggerimenti per la microscopia a contrasto di fase – Centramento del modulo PH e dell'anello di fase"



Portare nel percorso ottico il modulo Ph

Filtro GIF

Il filtro GIF (Green Interference Filter) migliora il contrasto quando viene inserito nel percorso ottico. Viene inserito al di sopra della lente di campo.

14 Centrare il modulo PH

Per ottimizzare l'effetto di contrasto di fase è importante sovrapporre correttamente la lamina di fase dell'obbiettivo all'immagine del diaframma anulare del modulo PH nel condensatore.

(1) Assicurarsi che l'obbiettivo 10x (Ph1) e la posizione [Ph1] della torretta del condensatore siano nel percorso ottico.

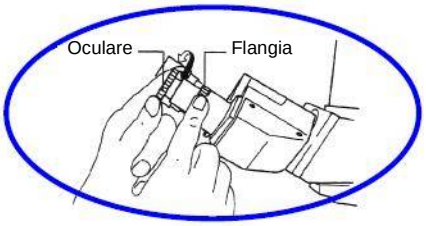
(2) Ruotare la manopola del tavolino per spostare il campione e portare nel percorso ottico una zona in cui con ci sia il campione sotto il vetrino di copertura.

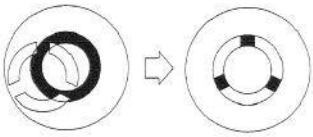
(3) Rimuovere un oculare dal tubo e montare il telescopio di centramento con l'adattatore.

(4) Tenere la flangia del telescopio di centramento e ruotare l'oculare per mettere a fuoco la lamina di fase dell'obbiettivo.

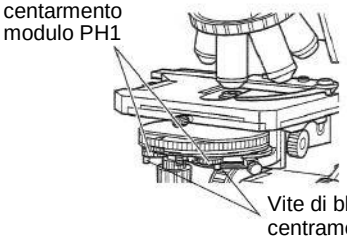
(5) Se la lamina di fase dell'obbiettivo non risulta allineata col diaframma anulare del condensatore, allinearla sollevando e premendo i due bottoni di centramento del diaframma anulare situati sul retro del condensatore e ruotando le viti di centramento. Una volta fatta quest'ultima operazione riportare i due bottoni di centramento nella loro posizione originale.

(6) Rimontare l'oculare sul tubo.





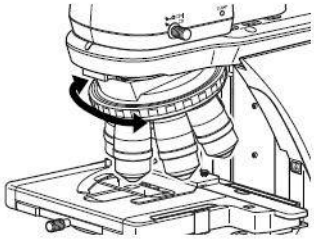
Non corretto Corretto



Centramento del diaframma anulare Ph

15 Portare nel percorso ottico un obbiettivo Ph arbitrario

Ruotare il condensatore per portare nel percorso ottico l'obbiettivo Ph desiderato.



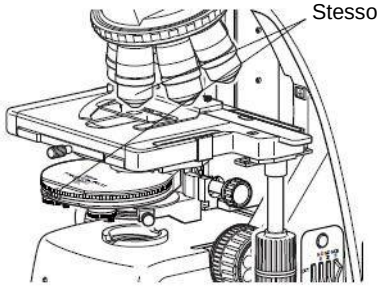
Portare nel percorso ottico un obbiettivo Ph arbitrario

Immersione in olio

Quando si usa un obbiettivo del tipo ad immersione in olio, applicare l'olio specificato non fluorescente fra il campione e l'obbiettivo. (Vedi capitolo 3 "12 Immersione in olio/immersione in acqua").
Poiché il condensatore CC fase e il condensatore universale non sono per uso a secco NON applicare olio da immersione fra l'estremità sferica del condensatore e il campione.

16 Aggiustare il modulo Ph nel condensatore con l'obbiettivo Ph da usare

Ruotare la torretta del condensatore per portare nel percorso ottico il modulo Ph con lo stesso codice Ph dell'obbiettivo.



Accordare il codice Ph

Codice Ph

Sull'obbiettivo Ph e indicato uno dei codici Ph, [Ph1], [Ph2] o [Ph3], a seconda della dimensione della lamina di fase. (I codici Ph non hanno niente a che vedere con l'ingrandimento dell'obbiettivo). Usare sempre un obbiettivo Ph e un diaframma anulare Ph con lo stesso codice Ph. Non ci si può attendere l'effetto di fase se viene utilizzata una diversa combinazione di codici.

Centramento del modulo PH e dell'anello di fase

La posizione di ogni modulo PH nella torretta del condensatore è già stata aggiustata sulla base del modulo PH Ph1, ma l'immagine di fase differirà leggermente a seconda di quanto il diaframma anulare si sovrappone alla lamina di fase. Per un'osservazione o acquisizione di immagini più rigorose, controllare se il diaframma anulare e la lamina di fase sono concentrici ad ogni ingrandimento.

17 Diaframma di apertura (non aggiustare)

Quando si usa il C-C Phase Turret Condenser, impostando la torretta del condensatore in una posizione che non sia [A] (vuota)ù, automaticamente si rimuove dal percorso ottico il diaframma di apertura. Per questa ragione non occorre aggiustare il diaframma di apertura per la microscopia a contrasto di fase.

Condensatore universale

Quando si esegue una microscopia a contrasto di fase usando un condensatore universale, regolare il diaframma di apertura in modo tale che risulti il 70 – 80 % dell'apertura numerica dell'obbiettivo usato. (Vedi il capitolo 3 "6 Aggiustamento del diaframma di apertura")

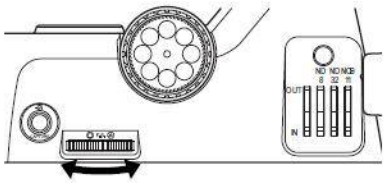
18 Mettere a fuoco il campione

Ruotare le apposite manopole per mettere a fuoco il campione. (Vedi capitolo 3 "2.4 Corretta procedura di messa a fuoco").

Mettere a fuoco usando le apposite manopole

19 Aggiustare il diaframma di campo

Ruotare il selettore del diaframma di campo per regolare il diaframma di campo in modo tale che quasi circoscriva il campo di vista



Aggiustare il diagramma di campo

Dimensione del diaframma di campo

Di norma il diaframma di campo dovrebbe essere regolato in modo tale che quasi circoscriva il campo di vista. Un diaframma di campo eccessivamente aperto provocherà l'ingresso di luci spurie nel campo di vista generando riflessioni indesiderate con conseguente riduzione del contrasto dell'immagine. Esso provocherà inoltre una decolorazione del campione su un'area più estesa.

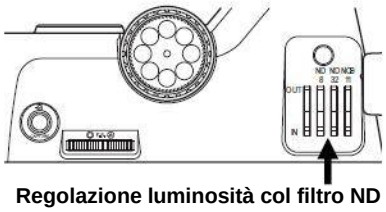
Dimensione appropriata del diaframma di campo

Quando aggiustare il diaframma di campo

Assicurarsi di aggiustare il diaframma di campo tutte le volte che si cambia l'obbiettivo.

20 Regolare la luminosità

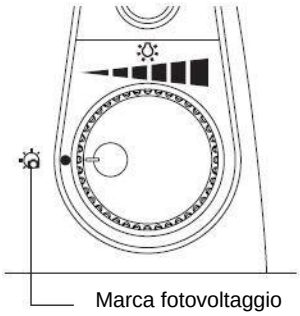
Regolare la luminosità dell'immagine usando il filtro ND. Premendo lo switch IN/OUT verso il lato [IN] (in basso) si porterà nel percorso ottico il filtro corrispondente. Notare che, la luminosità può essere regolata anche ruotando il bottone di controllo luminosità del dia-illuminatore ma ciò influirà sul colore dell'immagine. (Vedi capitolo 3, "1.2 Regolazione con i filtri ND").



Regolazione luminosità col filtro ND

Impostazione fotovoltaggio: per una migliore riproduzione del colore

Cambiando il voltaggio della lampada per regolare la luminosità si influisce sul colore temperatura della lampada e si altera il bilanciamento del colore dell'immagine. Incrementando il voltaggio si avrà una colorazione bluastra mentre riducendolo si avrà una colorazione rossastra. Se si desidera un'accurata riproduzione del colore impostare il bottone di controllo luminosità della lampada di dia-illuminazione in corrispondenza della marca per aggiustare la luminosità della lampada al fotovoltaggio adatto alla produzione dell'immagine. (Il valore del fotovoltaggio è regolato e impostato al momento della spedizione e l'utente non può modificarlo). Per regolare ulteriormente la luminosità senza cambiamenti di colore, portare il filtro NCB11 nella cassetta filtro nel percorso ottico. Usare i filtri ND per l'aggiustamento. (Vedi capitolo 3, "1 Aggiustamento della luminosità dell'immagine diascopica")



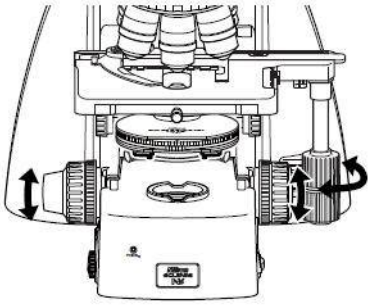
Impostazione fotovoltaggio

Osservazione del campione

21 Osservare il campione

Per osservare un'altra parte del campione ruotare le manopole del tavolino per trovare la posizione da osservare. Se il campione non è a fuoco ruotare le apposite manopole per regolare la messa a fuoco.

Per osservare con un diverso ingrandimento, ripetere i passi 15 e successivi con un altro obbiettivo.



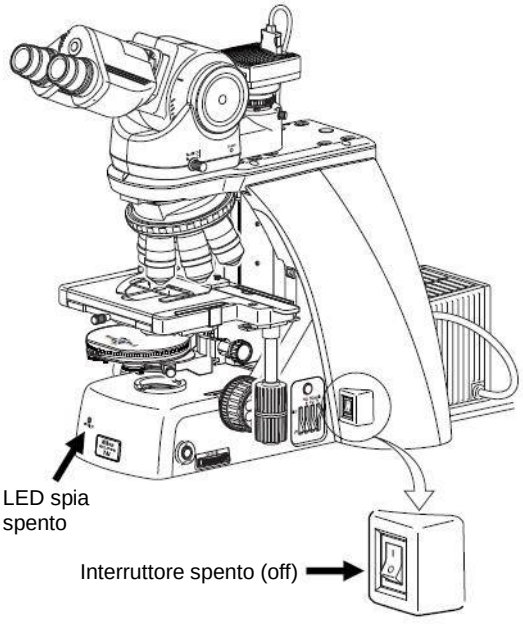
Slider analizzatore NI-FA FL/DIC / slider dummy

Se sul microscopio è presente una torretta cubo epifluorescenza, l'elemento ottico per la microscopia in epifluorescenza installato nella torretta non è usato nella microscopia a contrasto di fase. Impostare la posizione vuota della torretta nel percorso ottico.

Se è inserito lo slider analizzatore FL/DIC, estrarlo fino alla posizione del primo click stop per rimuoverlo dal percorso ottico. Se invece dello slider analizzatore è inserito uno slider dummy, non spingerlo fino a fine corsa e assicurarsi di estrarlo di un click. Se è inserito fino a fine corsa la periferia può risultare scura.

22 Spengere il microscopio

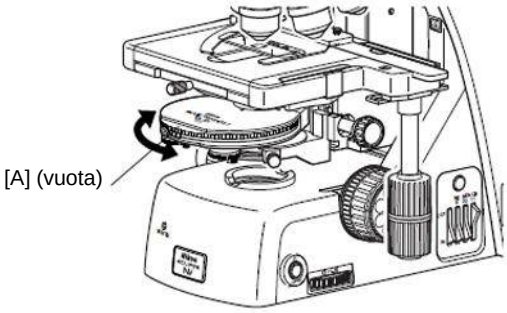
Spengere l'interruttore generale del microscopio (mettere nella posizione "**O**") (Il LED di spia accensione si spengerà).



Spengere il microscopio

Passaggio da microscopia a contrasto di fase a microscopia in campo chiaro

Ruotare la torretta del condensatore per portare nel percorso ottico la posizione [A] (vuota). Per le altre operazioni e precauzioni riferirsi al Paragrafo 2 “Microscopia in campo chiaro/scuro”



Spostare il condensatore nella posizione [A] (vuota)

Microscopia a basso ingrandimento

La prestazione in campo chiaro del condensatore a contrasto di fase C-C è equivalente a quella del condensatore di Abbe. Gli obbiettivi 1x e 2x non sono supportati. Inoltre, l’intero campo di vista può non essere coperto quando si usa un obbiettivo 4x con oculare UW.

Condensatore universale

Quando si esegue una microscopia a contrasto di fase utilizzando un condensatore universale, per passare a microscopia in campo chiaro, ruotare la torretta del condensatore per portare nel percorso ottico la posizione [O] (vuota).
Inoltre, per eseguire una microscopia in campo chiaro con obbiettivo 2x o 4x, montare la “lente ausiliaria 2-4x” sulla torretta del condensatore e portarla nel percorso ottico. Quando si fa questo, aprire completamente i diaframmi di campo e do apertura per il massimo grado di illuminazione.

Passaggio da microscopia a contrasto di fase a microscopia in epifluorescenza

Vedi la parte finale del paragrafo 3 “ Microscopia in epi-fluorescenza”

6 Microscopia in campo chiaro motorizzata

Questo paragrafo descrive la procedura per la microscopia motorizzata in campo chiaro
Il microscopio può essere controllato anche dalla DS-L3 se al microscopio è collegata un'unità controllo camera DS DS-L3. Per quelle procedure che possono essere eseguite dalla DS- L3 sono mostrati esempi di schermate [MICROSCOPE CONTROL] della DS-L3 con i bottoni di controllo usati. Il contenuto e la disposizione dei bottoni sulle schermate rappresentate nelle figure possono differire dalla reale schermata [MICROSCOPE CONTROL] poiché le impostazioni dei bottoni nella schermata [MICROSCOPE CONTROL] possono essere cambiati a piacimento.
Per i dettagli sulla procedura di controllo da DS-L3, riferirsi al Capitolo 4 "Microscopia con DS-L3" del manuale di istruzioni della DS-L3 "Operazione Microscopio". Vedere anche il Capitolo 3, "19 Funzionamento con DS-L3" - 19.2 "Controllo Microscopio" in questo manuale.

Preparazione

1 **Accendere l'interruttore generale**

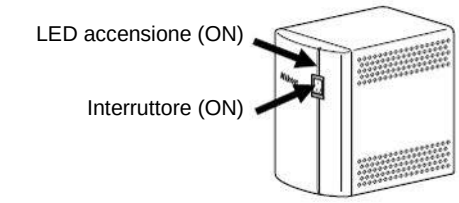
Premere l'interruttore nella posizione [**I**] .

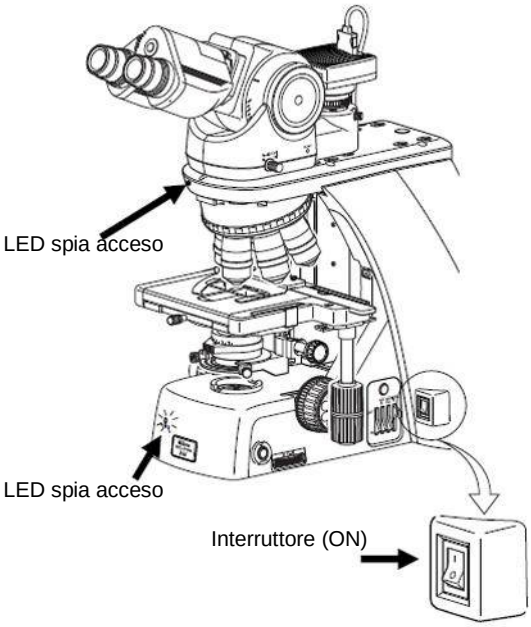
(1) Accendere tutti i dispositivi accessori connessi.
(Escluso la Ds-L3).
(Il LED di accensione di ogni dispositivo si accenderà).

(2) Accendere la control box B e il microscopio
(Il LED di accensione sulla control box B, sul frontale del microscopio e sul braccio di contatto si accenderanno).

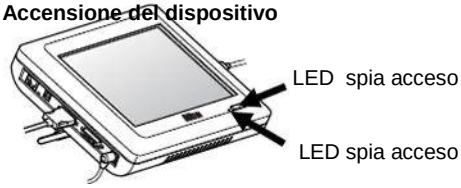
(3) Accendere l'interruttore della DS-L3.

Sequenza di accensione
Accendere gli interruttori nell'ordine descritto sopra. Non esiste una sequenza specifica per i dispositivi accessori. Tuttavia, quando è collegata la DS-L3, accenderla per ultima. Questo farà sì che vengano caricati nella DS-L3 i dati come la configurazione del sistema e le impostazioni

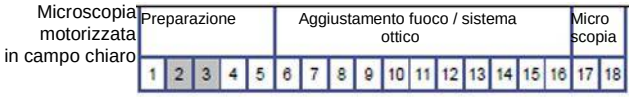




Accensione del dispositivo

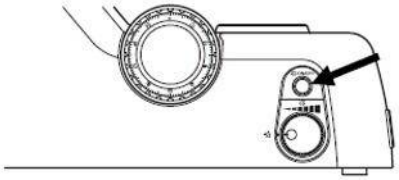


Accensione del sistema


Microscopia motorizzata in campo chiaro
Preparazione
Aggiustamento fuoco / sistema ottico
Micro scopia
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18

2 Accendere la dia illuminazione

Premere l'interruttore ON/OFF della dia-illuminazione.



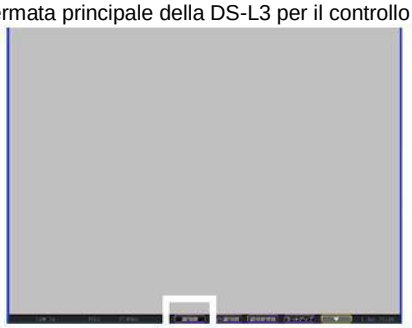
Lampada dia illuminazione accesa

Accensione della lampada, controllo regolazione luminosità

La lampada può anche essere accesa e regolata dalla DS-L3 configurando il bottone controllo lampada nella schermata [MICROSCOPE CONTROL] o nella schermata [CAM-MIC] della DS-L3. Quando viene acceso l' Ni-U vengono abilitati i suoi switch di controllo.

Per controllare dalla DS-L3 commutare premendo il bottone [LAMP CTRL] configurato sulla DS-L3. Quando il bottone è evidenziato il microscopio può essere controllato dalla DS-L3.

Schermata principale della DS-L3 per il controllo microscopio



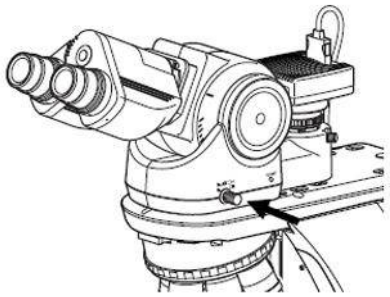
Tab [MIC]: Passaggio alla schermata controllo microscopio

Schermata [MICROSCOPE CONTROL]

Bottone [LAMP CTRL]: passa al controllo lampada
Bottone [LAMP ON/OFF]: accens./ speng. lampada
Bottone [ADJUST]: apre sottoschermata per regolazione
Bottone [PHOTO] (nella sottoschermata): imposta il fotovoltaggio

3 Regolare il percorso ottico del tubo per dirigere il 100% della luce nella sezione binoculare

Premere all'interno la leva di commutazione percorso ottico.



Premere la leva di commutazione percorso ottico per avere il 100% della luce nel binoculare

Microscopia motorizzata in campo chiaro

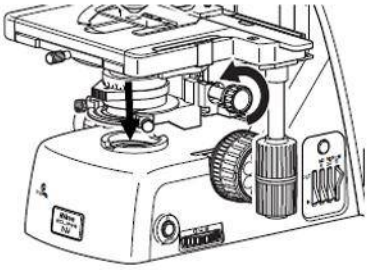
Preparazione					Aggiustamento fuoco / sistema ottico										Micro scopia	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18

4 Abbassare leggermente il condensatore dalla sua posizione più elevata

Ruotare la manopola di messa a fuoco del condensatore fino a quando esso non è posizionato al fine corsa superiore (in cui si ferma con un “click”) e quindi abbassarlo leggermente.

Nota sul funzionamento del condensatore

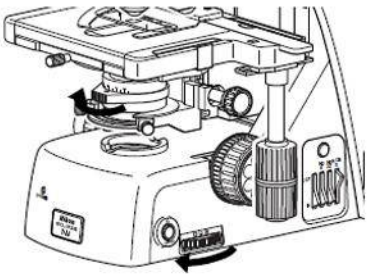
Quando si usa il condensatore inclinabile, portare la lente superiore nel percorso ottico. Quando si usa lo “slide achro condenser”, estrarre la slider.



Abbassare leggermente il condensatore dalla sua posizione più elevata usando la manopola di messa a fuoco.

5 Aprire completamente i diaframmi di campo e di apertura

Ruotare il selettore del diaframma di campo e la leva del diaframma di apertura in senso orario per aprirli completamente.



Aprire completamente i diaframmi di campo e di apertura

Regolazione del fuoco e del sistema ottico

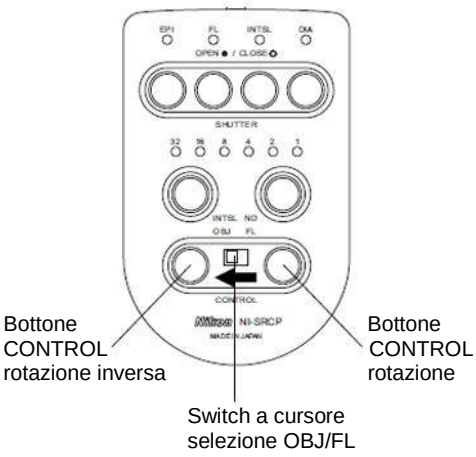
6

Portare nel percorso ottico l'obbiettivo 10x

(1) Scorrere lo switch a cursore per la selezione OBJ/FL sulla tastiera del controllo remoto, verso il lato [OBJ].

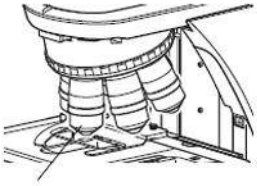
(2) Premere il bottone CONTROLLO rotazione o il bottone CONTROLLO rotazione inversa, per portare l'obbiettivo 10x nel percorso ottico.

Il bottone rotazione ruota il portaobiettivi in senso orario (vista da sopra), mentre il bottone rotazione inversa lo ruota in verso antiorario. Il portaobiettivi ruota verso l'indirizzo adiacente tutte le volte che viene premuto un bottone.



Switch a cursore per la selezione OBJ/FL

Questo switch commuta la funzione dei bottoni CONTROL rotation / reverse rotation. Scorrere lo switch verso [OBJ] per il funzionamento motorizzato del portaobbiettivi e verso [FL] per il funzionamento motorizzato della torretta cubo epifluorescenza.



Portare nel percorso ottico l'obbiettivo 10x

Inibizione della rotazione inversa del portaobiettivi motorizzato

Onde evitare che la lente dell'obbiettivo tocchi il campione quando viene ruotato il portaobiettivi motorizzato, è possibile inibire la rotazione diretta dall'indirizzo 1 all'indirizzo 6 o 7 nel portaobiettivo motorizzato sestuplo/ettuplo. La configurazione si esegue sulla DS-L3 (vedi Capitolo 3, "9.2 Funzionamento del portaobiettivi motorizzato", "19 Funzionamento con la DS-L3" - "19.1 Impostazione del microscopio-(4-1) ROTAZIONE INVERSA PORTOBIETTIVO).

Istruzioni per la rotazione del portaobiettivi

Impostazione [10x]

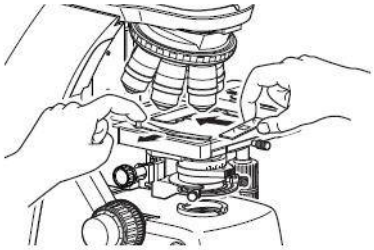
Portaobiettivi intelligente

Per i portaobiettivi intelligenti non è disponibile il funzionamento motorizzato. L'obbiettivo deve essere commutato manualmente. E' fornita solo l'informazione sul display della DS-L3.

7 Mettere un campione sul tavolino e spostarlo per portare in vista il target

(1) Aprire la chela della parte mobile del portacampioni e posizionare il campione sullo stadio, riportare delicatamente indietro la chela per fissare il campione.

(2) Ruotare le manopole X/Y per muovere il tavolino e portare l'area di interesse nel percorso ottico. (Vedi Capitolo 3, paragrafo 5 "Portare l'area di interesse nel percorso ottico (Movimento orizzontale del tavolino. Rotazione)") (In tal modo il campione sigillato sotto il vetro di copertura sarà illuminato).



Vetro di copertura in alto

Montaggio del campione

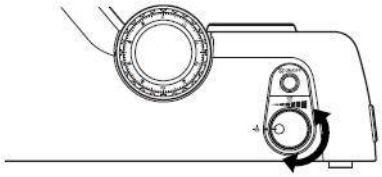
Slide non fluorescente, esente da distorsione

Usare slide e vetri di copertura non fluorescenti ed esenti da distorsione.

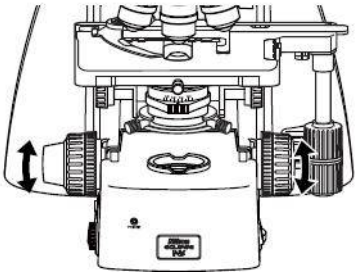
8 Mettere a fuoco il campione

(1) Guardare nell'oculare e aggiustare la luminosità ruotando il bottone di controllo del dia illuminatore in modo tale da ottenere una luminosità appropriata.

(2) Guardare nell'oculare e mettere a fuoco il campione ruotando le manopole di messa a fuoco grossolana (prima) e fine (Vedi capitolo 3, "2.4 Corretta procedura di messa a fuoco").



Regolazione luminosità



Messa a fuoco usando le apposite manopole

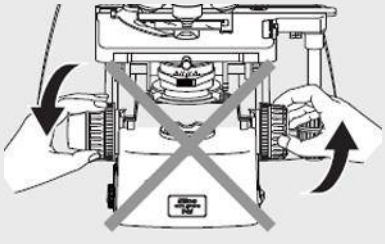
Rifocamento

Ruotando l'anello di blocco messa a fuoco grossolana dopo aver messo a fuoco il campione, si può evitare che il tavolino venga ulteriormente sollevato col bottone di messa a fuoco grossolana. Il movimento del tavolino con la manopola di messa a fuoco fine non sarà bloccato. Usando questa funzione è possibile eseguire il rifocamento con una semplice rotazione della manopola grossolana fino al limite. (vedi capitolo 3, "2.3 Rificamento").

Nota sul controllo della manopola di messa a fuoco

Evitare le seguenti azioni che potrebbero causare un malfunzionamento dell'apparecchiatura

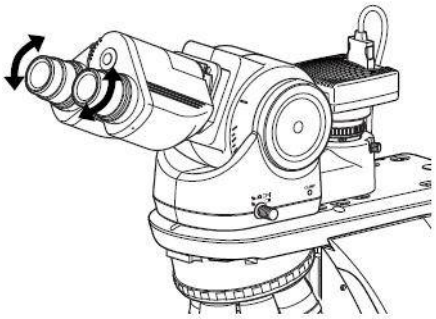
- Rotazione in sensi opposti delle manopole di messa a fuoco sinistra e destra.
- Rotazione della manopola di messa a fuoco grossolana oltre il limite di corsa.



Non ruotare le manopole di messa a fuoco in senso opposto!

9 Eseguire l'aggiustamento diottrico

Guardare nell'oculare destro con l'occhio destro e nell'oculare sinistro con l'occhio sinistro. Ruotare l'anello di regolazione diottrica di ciascun oculare per mettere a fuoco il campione. In questa operazione non vengono usate le manopole di messa a fuoco. (Vedi Capitolo 3, "4 Aggiustamento diottrico").



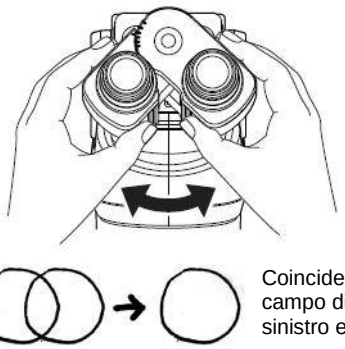
Aggiustamento diottrico

10 Aggiustamento della distanza interpupillare

Guardare in ambedue gli oculari e ruotare la parte binoculare per regolarne l'apertura fino a quando i campi di vista dell'occhio destro e sinistro non coincidono.

Suggerimento per l'esecuzione della regolazione della distanza interpupillare

Per facilitare l'aggiustamento, guardare negli oculari come se si stesse guardando un oggetto lontano.



Regolazione della distanza interpupillare

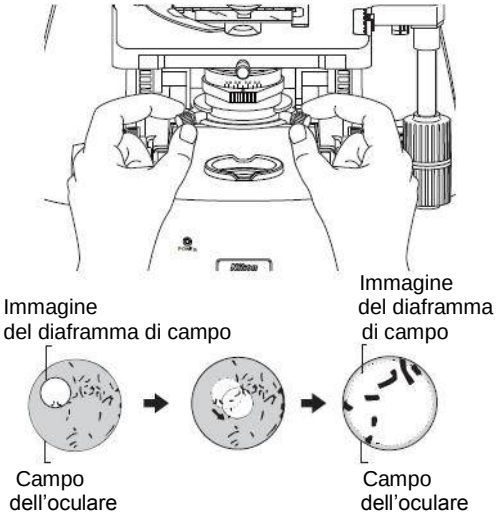
11 Mettere a fuoco e centrare il condensatore

(1) Ruotare il selettore del diaframma di campo per chiudere al minimo il diaframma di campo e guardare negli oculari. Mettere a fuoco l'immagine del diaframma di campo usando la manopola di messa a fuoco del condensatore, quindi aggiustare la vite di centramento del condensatore per centrare l'immagine del diaframma nel campo di vista.

(2) Portare nel percorso ottico l'obbiettivo 40x per controllare la messa a fuoco e il centramento dell'immagine del diaframma di campo. Eseguire i necessari aggiustamenti.

(3) Ruotare il selettore del diaframma di campo e aggiustare l'immagine del diaframma di campo in modo tale che la sua dimensione sia prossima al campo di vista.

(Vedi Capitolo 3, "5 Messa a fuoco e centramento del condensatore").



Messa a fuoco e centramento del condensatore

12 Portare nel percorso ottico un obbiettivo arbitrario

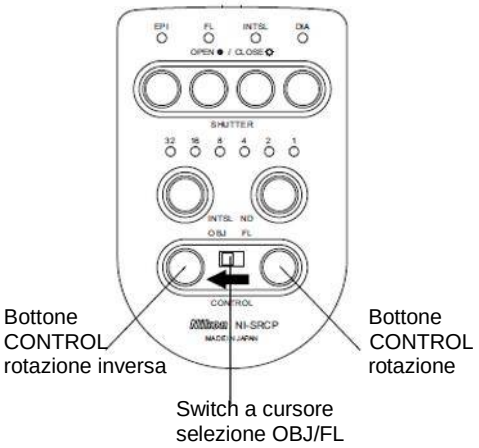
(1) Assicurarsi che lo switch a cursore OBJ/FL, sulla tastiera del “remote control”, sia posizionato su [OBJ].

(2) Premere il bottone CONTROL rotazione o CONTROL rotazione inversa per portare l’obbiettivo desiderato nel percorso ottico.

Immersione in olio

Quando si usa un obbiettivo del tipo ad immersione in olio, applicare l’olio specificato non fluorescente fra il campione e l’obbiettivo. (Vedi capitolo 3 “12 Immersione in olio/immersione in acqua”).

Poiché il condensatore a torretta C-C e il condensatore universale non sono per uso a secco NON applicare olio da immersione fra l’estremità sferica del condensatore e il campione.



Portare nel percorso ottico un obbiettivo arbitrario

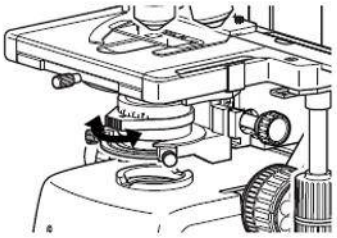
Commutazione alternata fra due obbiettivi col portaobiettivi motorizzato

Possono essere commutati alternativamente due obbiettivi specificando il paio. Il paio può essere specificato tramite la DS-L3. L’operazione di commutazione è fatta tramite il bottone CONTROL rotazione/rotazione inversa sulla tastiera del “remote control”. (Vedi capitolo 3 “9.2 Funzionamento del portaobiettivi motorizzato”, “19 Funzionamento col la DS-L3” – “19.1 Impostazione del microscopio (4.2) NOSEPiECE TOGGLE).

Configurazione di un obbiettivo arbitrario

13 Aggiustare il diaframma di apertura

Per regolare l'apertura ruotare la leva del diaframma di apertura del condensatore. L'apertura deve essere aggiustata da circa il 70% a circa l'80% dell'apertura numerica dell'obbiettivo. (Vedi Capitolo 3, "6 Aggiustamento del diaframma di apertura")



Regolazione del diaframma di apertura

Dimensione appropriata del diaframma di apertura

Di norma la giusta dimensione del diaframma di apertura è da 70 a 80% dell'apertura numerica dell'obbiettivo. Poiché un diaframma di apertura eccessivamente chiuso degrada la risoluzione dell'immagine, non è raccomandabile impostare il diaframma di apertura al di sotto del 60% dell'apertura numerica dell'obbiettivo.

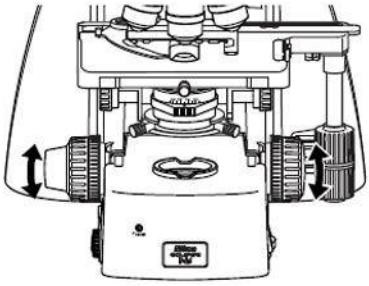
Corretta dimensione del diaframma di apertura

Quando aggiustare il diaframma di apertura

Assicurarsi di aggiustare il diaframma di apertura tutte le volte che si cambia l'obbiettivo.

14 Mettere a fuoco il campione

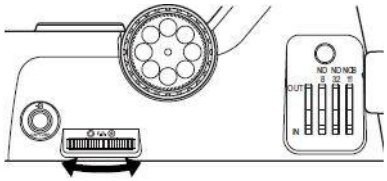
Ruotare la manopola di messa a fuoco per controllare la sezione di elevazione dell'unità principale microscopio. (Vedi Capitolo 3, "2.4 Appropriata procedura di messa a fuoco").



Mettere a fuoco con l'apposita manopola

15 Aggiustare il diaframma di campo

Ruotare il selettore del diaframma di campo per regolare il diaframma di campo in modo tale che quasi circoscriva il campo di vista



Aggiustamento del diaframma di campo

Dimensione del diaframma di campo

Di norma il diaframma di campo dovrebbe essere regolato in modo tale che quasi circoscriva il campo di vista. Un diaframma di campo eccessivamente aperto provocherà l'ingresso di luci spurie nel campo di vista generando riflessioni indesiderate con conseguente riduzione del contrasto dell'immagine. Esso provocherà inoltre una decolorazione del campione su un'area più estesa.

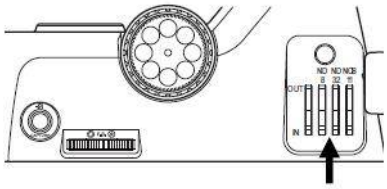
Corretta dimensione del diaframma di campo

Quando aggiustare il diaframma di campo

Assicurarsi di aggiustare il diaframma di campo tutte le volte che si cambia l'obbiettivo.

16 Regolare la luminosità

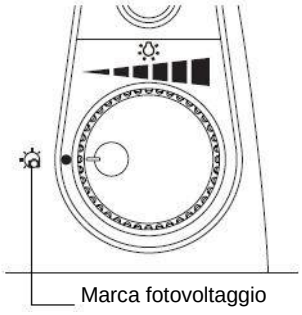
Regolare la luminosità dell'immagine usando il filtro ND. Premendo lo switch IN/OUT verso il lato [IN] (in basso) si porterà nel percorso ottico il filtro corrispondente. Notare che, la luminosità può essere regolata anche ruotando il bottone di controllo luminosità del dia-illuminatore ma ciò influirà sul colore dell'immagine. (Vedi capitolo 3, "1.2 Regolazione con i filtri ND").



Regolazione luminosità coi filtri ND

Impostazione fotovoltaggio: per una migliore riproduzione del colore

Cambiando il voltaggio della lampada per regolare la luminosità si influisce sul colore temperatura della lampada e si altera il bilanciamento del colore dell'immagine. Incrementando il voltaggio si avrà una colorazione bluastra mentre riducendolo si avrà una colorazione rossastra. Se si desidera un'accurata riproduzione del colore impostare il bottone di controllo luminosità della lampada di dia-illuminazione in corrispondenza della marca per aggiustare la luminosità della lampada al fotovoltaggio adatto alla produzione dell'immagine. (Il valore del fotovoltaggio è regolato e impostato al momento della spedizione e l'utente non può modificarlo). Per regolare ulteriormente la luminosità senza cambiamenti di colore, portare il filtro NCB11 nella cassetta filtro nel percorso ottico. Usare i filtri ND per l'aggiustamento. (Vedi capitolo 3, "1 Aggiustamento della luminosità dell'immagine diascopica")



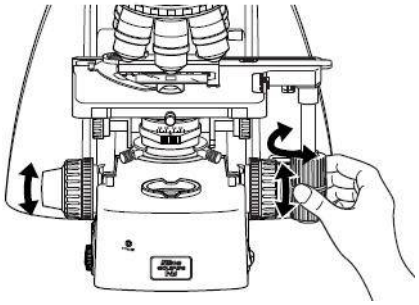
Impostazione fotovoltaggo

Osservazione del campione

17 Osservazione del campione

Per osservare un'altra parte del campione ruotare le manopole del tavolino per trovare la posizione da osservare. Se il campione non è a fuoco, ruotare le apposite manopole per aggiustare la messa a fuoco.

Per osservare con un diverso ingrandimento ripetere i passi 12 e successivi con un altro obbiettivo.



Abbagliamento quando si commuta metodo di microscopia

Quando si commuta da microscopia in campo scuro a microscopia in campo chiaro possono capitare bagliori nel campo di vista che possono provocare abbagliamento. Per evitare questo chiudere gli occhi o guardare fuori dagli oculari durante la commutazione.

Microscopia a basso ingrandimento

Se si sta usando un condensatore universale durante una microscopia in campo chiaro con obbiettivi 2x o 4x, montare la "lente ausiliaria 2-4x" sulla torretta e introdurla nel percorso ottico. Quando si fa questo aprire completamente i diaframmi di apertura e di campo per avere il massimo grado di illuminazione.

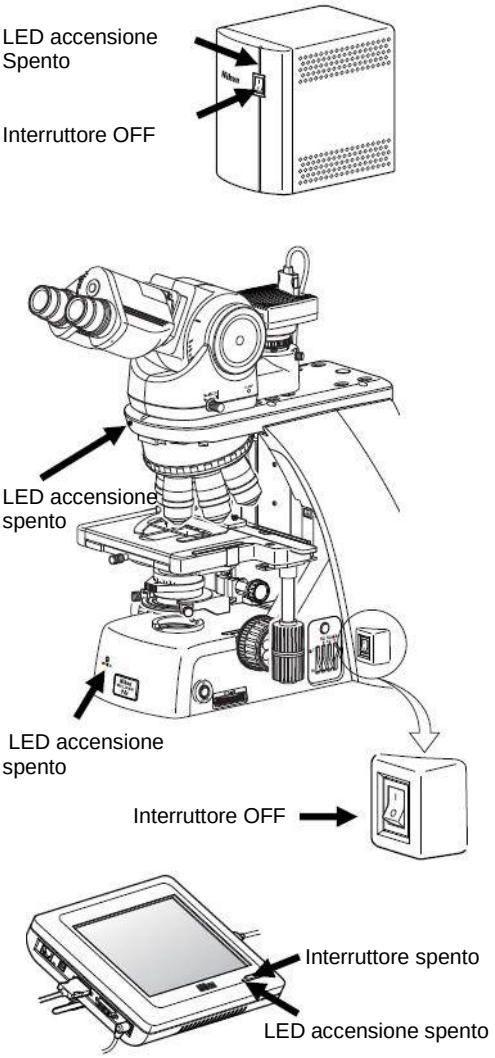
Slider analizzatore NI-FA FL/DIC / slider dummy

Se sul microscopio è presente una torretta cubo epifluorescenza, l'elemento ottico per la microscopia in epifluorescenza installato nella torretta non è usato nella microscopia a contrasto di fase. Impostare la posizione vuota della torretta nel percorso ottico.

Se è inserito lo slider analizzatore FL/DIC, estrarlo fino alla posizione del primo click stop per rimuoverlo dal percorso ottico. Se invece dello slider analizzatore è inserito uno slider dummy, non spingerlo fino a fine corsa e assicurarsi di estrarlo di un click. Se è inserito fino a fine corsa la periferia può risultare scura.

18 Spengere il microscopio

Spengere gli interruttori generali (mettere nella posizione “**O**”) della control box B, del microscopio e dei dispositivi motorizzati collegati. (Ogni LED di spia accensione si spengerà).



Spengere i dispositivi

7 Microscopia in epifluorescenza motorizzata

Questo paragrafo descrive la procedura per la microscopia in epifluorescenza motorizzata.
Trovare il target sul campione usando la dia illuminazione e preparare per la microscopia in epi-fluorescenza seguendo quando descritto nel paragrafo precedente “6 Microscopia in campo chiaro motorizzata”
Il microscopio può essere controllato anche dalla DS-L3 se al microscopio è collegata un’unità controllo camera DS DS-L3. Il microscopio può essere controllato anche dalla DS-L3 se al microscopio è collegata un’unità controllo camera DS DS-L3. Per quelle procedure che possono essere eseguite dalla DS- L3 sono mostrati esempi di schermate [MICROSCOPE CONTROL] della DS-L3 con i bottoni di controllo usati. Il contenuto e la disposizione dei bottoni sulle schermate rappresentate nelle figure possono differire dalla reale schermata [MICROSCOPE CONTROL] poiché le impostazioni dei bottoni nella schermata [MICROSCOPE CONTROL] possono essere cambiati a piacimento.

Per le operazioni sulla DS-L3, riferirsi al capitolo 3, ”19 Funzionamento con DS-L3” - 19.2 “Controllo Microscopio” in questo manuale.

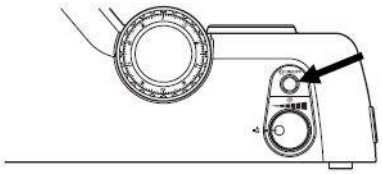
AVVERTENZA
La sorgente di luce usata con l’accessorio per epi-fluorescenza (lampada al mercurio) richiede una particolare cura nella maneggio a causa delle sue caratteristiche. Assicurarsi di aver acquisito su di essa una sufficiente conoscenza e di osservare tutte le avvertenza e le precauzioni descritte all’inizio del manuale di istruzioni.

Preparazione

Trovare l’area di interesse sul campione con la dia-illuminazione come descritto in “6 Microscopia in campo chiaro motorizzata” (Vedi il capitolo 3 “14.10 Altre considerazioni riguardanti la microscopia in epi-fluorescenza”).

1 **Spengere la lampada di dia-illuminazione**

Premere l’interruttore ON/OFF della dia illuminazione.



Lampada di dia illuminazione spenta

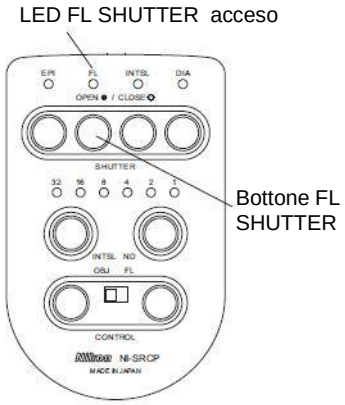
Schermata [MICROSCOPE CONTROL]

Configurazione “Lamp off”

2 Chiudere l'otturatore e bloccare il percorso di illuminazione

Premere il bottone FL SHUTTER sulla tastiera del telecomando per chiudere l'otturatore nella torretta cubo fluorescenza motorizzata. Quando l'otturatore chiuso è il LED FL SHUTTER sulla tastiera del telecomando si accenderà).

L'otturatore si chiude e si apre tutte le volte che si preme il bottone.



Chiudere l'otturatore

Otturatore

L'otturatore blocca l'illuminazione.

Se il campione è esposto continuamente alla forte luce della lampada a mercurio può danneggiarsi o scolorarsi.

Assicurarsi di aver chiuso l'otturatore quando si sospende la microscopia o quando si sospende la microscopia in epi-fluorescenza per eseguire la microscopia con luce diascopica.

Fare in modo di acquisire come abitudine l'esecuzione di questa operazione.

Bottone [SHUTTER FL]: Apre/chiude l'otturatore nella torretta cubo epi fluorescenza motorizzata

L'etichetta del bottone cambia indicando lo stato aperto/chiuso corrente.

[OPEN]: aperto , [CLOSE]: chiuso

Quando si usa la torretta cuibo per epifluorescenza intelligente, il bottone [SHUTTER FL] non appare. Quindi non è possibile determinare lo stato aperto/chiuso dell'otturatore sulla DS-L3

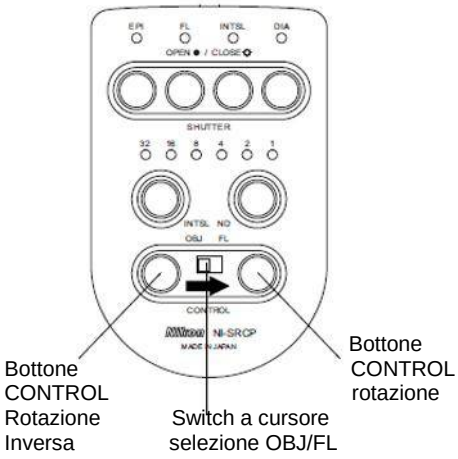
Blocco della luce in epi-fluorescenza con gli otturatori

Gli otturatori sono incorporati nella torretta cubo epi-fluorescenza e nell'illuminatore HG a fibra ottica precentrata. Inoltre un epi-otturatore motorizzato può essere installato sul microscopio. L'illuminazione in epi-fluorescenza può essere bloccata chiudendo uno di questi otturatori. (Vedi Capitolo 3, paragrafo "14.3 Protezione del campione e prevenzione della decolorazione (Usando l'otturatore)").

3 Portare nel percorso ottico il cubo filtro

(1) Scorrere lo switch a cursore OBJ/FL sul telecomando nella posizione FL.

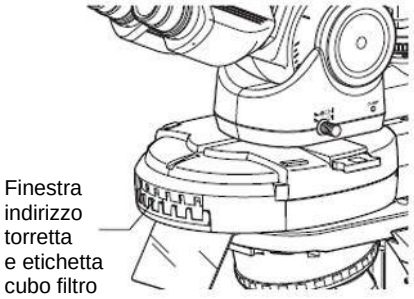
(2) Premere il bottone CONTROL rotazione o il bottone CONTROL rotazione inversa per portare il cubo filtro desiderato nel percorso ottico.
Il bottone rotazione ruota il portaobiettivi in senso orario (visto da sopra) mentre il bottone rotazione inversa ruota la torretta cubo epi fluorescenza in senso antiorario. La torretta ruota nella posizione adiacente tutte le volte che viene premuto un bottone.



Portare il cubo filtro nel percorso ottico

Switch a cursore selezione OBJ/FL

Questo switch commuta la funzione dei bottoni CONTROL rotazione/rotazione inversa. Scorrere lo switch in posizione [FL] per l'operazione motorizzata della torretta cubo epi fluorescenza e in posizione [OBJ] per l'operazione motorizzata del portaobiettivi.



Selezione di un cubo filtro

Un cubo filtro consiste in tre tipi di componenti ottici: un filtro eccitazione (filtro EX), un filtro barriera (filtro BA) e uno specchio dicroico (DM). Selezionare il cubo filtro con la combinazione appropriata di componenti ottici per le caratteristiche del campione e della colorazione in fluorescenza (vedi Capitolo 3, "14.2 "Selezione dei filtri").

Bottone [FL TURRET]: Apre la sottoschermata per commutare la toretta cubo epi-fluorescenza.-

Configurazione del cubo filtro

Torretta cubo epi-fluorescenza intelligente

Il funzionamento motorizzato non è disponibile nella torretta cibo epi-fluorescenza intelligente. Commutare l'obbiettivo manualmente. Sulla DS-L3 è reso disponibile solo il display di informazione.

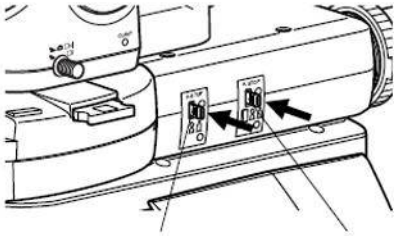
Microscopia in epi fluorescenza motorizzata

Preparazione							Messa a fuoco				Micro scopia		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14

4

Aprire completamente il diaframma di campo e il diaframma di apertura del dispositivo per epi-fluorescenza

Spingere all'interno le leve del diaframma di campo e di apertura sul dispositivo per epi-fluorescenza al fine di aprire completamente i due diaframmi.



Leva diaframma di campo

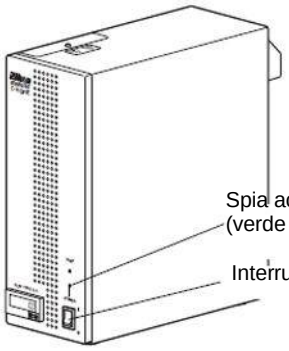
Leva diaframma di Apertura

Aprire completamente i diaframmi di campo e di apertura

5

Accendere la lampada al mercurio

Per i dettagli consultare il manuale dell'illuminatore.



Accensione lampada al mercurio

6 Se si ha bisogno di un altro ingrandimento

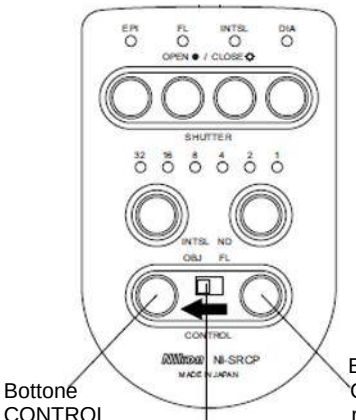
(1) Assicurarsi che lo switch a cursore di selezione OBJ/FL posto sul telecomando sia sul lato [OBJ].

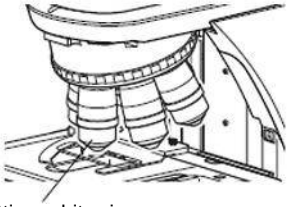
(2) Premere il bottone CONTROL rotazione o il bottone CONTROL rotazione inversa per portare l'obbiettivo desiderato nel percorso ottico.

Immersione in olio

Quando si usa un obbiettivo del tipo ad immersione in olio, applicare l'olio specificato non fluorescente fra il campione e l'obbiettivo. (Vedi capitolo 3 "12 Immersione in olio/immersione in acqua").

Poiché il condensatore a torretta C-C fase e il condensatore universale non sono per uso a secco NON applicare olio da immersione fra l'estremità sferica del condensatore e il campione.





Portare nel percorso ottico un obbiettivo arbitrario

Commutazione alternata fra due obbiettivi del portaobiettivi motorizzato

Possono essere commutati alternativamente due obbiettivi specificando il paio. Il paio può essere specificato tramite la DS-L3. L'operazione di commutazione è fatta tramite il bottone CONTROL rotazione/rotazione inversa sulla tastiera del "remote control". (Vedi capitolo 3 "9.2 Funzionamento del portaobiettivi motorizzato", "19 Funzionamento col la DS-L3" – "19.1 Impostazione del microscopio (4.2) NOSEPiECE TOGGLE).

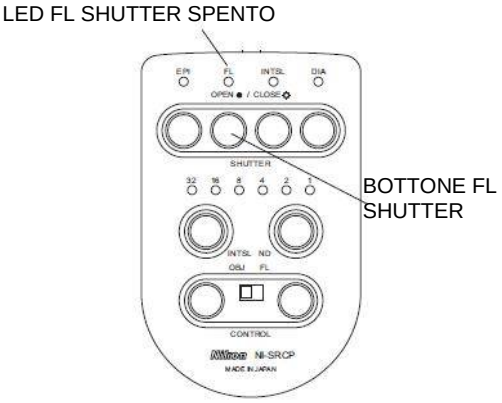
Configurazione di un obbiettivo arbitrario

Microscopia in epi fluorescenza motorizzata

Preparazione							Messa a fuoco				Micro scopia		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14

7 Aprire l’otturatore

Premere il bottone FL SHUTTER sul telecomando per aprire l’otturatore nella torretta cubo epi-fluorescenza.
(Quando l’otturatore è aperto, il LED FL SHUTTER sul telecomando si spengerà) L’otturatore si apre/chiude tutte le volte che viene premuto il bottone.



Apertura dell’otturatore

Bottone [SHUTTER] : apre/chiude l’otturatore nella torretta cubo epi fluorescenza motorizzata.

L’etichetta del bottone cambia indicando lo stato aperto/chiuso corrente.

[OPEN]: aperto, [CLOSE]: chiuso

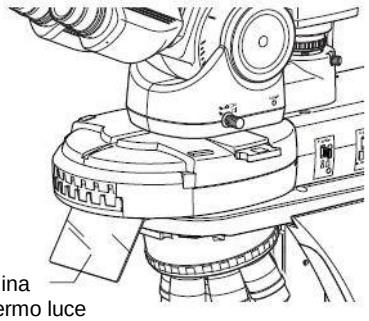
Quando si usa la torretta cubo epifluorescenza intelligente, il bottone [SHUTTER FL] non appare. Non è possibile quindi determinare lo stato otturatore aperto/chiuso sulla DS-L3.

Altri otturatori

Se l’otturatore dell’illuminatore a fibra precentrata o l’EPI otturatore motorizzato sono chiusi assicurarsi di aprire anche questi otturatori.

Lamina di schermo luce sulla torretta cubo epi-fluorescenza

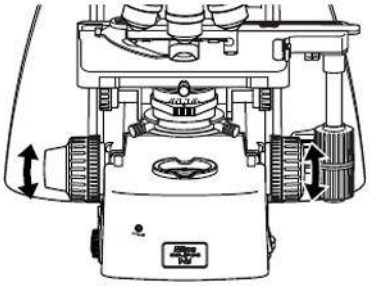
La lamina di protezione luce protegge gli occhi dell’operatore dalla luce ultravioletta riflessa che viene emessa originariamente dall’obbiettivo al campione.



Regolazione del fuoco e del sistema ottico

8 Mettere a fuoco il campione

Ruotare la manopola di messa a fuoco per controllare la sezione di elevazione. (Vedi capitolo 3, “2.4 Appropriata procedura di messa a fuoco”).



Mettere a fuoco con l’apposita manopola

Rifuocamento

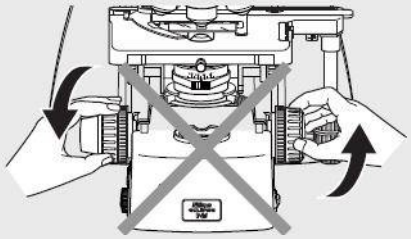
Ruotando l’anello di blocco della messa a fuoco grossolana dopo aver messo a fuoco il campione, si impedisce che il tavolino venga ulteriormente alzato col bottone di messa a fuoco grossolana. Il movimento del tavolino col bottone di messa a fuoco fine non verrà bloccato.

Usando questa funzione è possibile ritrovare facilmente la posizione di fuoco semplicemente ruotando il bottone di messa a fuoco grossolana. (Vedi Capitolo 3, “2.3 Rifuocamento”).

Nota sul controllo della manopola di messa a fuoco

Evitare l’azione seguente che potrebbe causare un malfunzionamento dell’apparecchiatura

- Rotazione in sensi opposti delle manopole di messa a fuoco sinistra e destra
- Ruotare la manopola di messa a fuoco grossolana oltre il punto limite

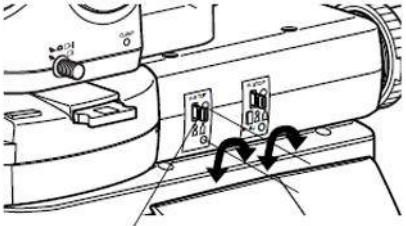


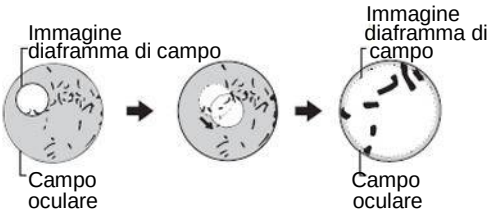
Non ruotare le manopole di messa a fuoco in senso opposto!

9 Centrare il diaframma del dispositivo epi-fluorescenza

(1) Usare la leva del diaframma di campo sul dispositivo per epi-fluorescenza per chiudere il diaframma di campo e quindi spostare l’immagine del diaframma di campo nel centro del campo di vista ruotando la vite di centramento mediante una chiave esagonale (2 mm).

(2) Aprire il diaframma di campo per adattare il campo di vista e di nuovo ruotare la vite di centramento per spostare l’immagine del diaframma di campo nel centro del campo di vista.





Centrare il diaframma di campo

Cambio ingrandimento

Nonostante non sia assolutamente essenziale centrare il diaframma di campo tutte le volte che si cambia l’obbiettivo, si dovrebbe sempre eseguire un rapido controllo e fare i necessari aggiustamenti.

Microscopia
in epi fluorescenza
motorizzata

Preparazione							Messa a fuoco				Micro scopia		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14

10 Regolare il diaframma di campo del dispositivo per epi-fluorescenza

Usare la leva del diaframma di campo del dispositivo per epi-fluorescenza per regolare il diaframma stesso in modo tale che quasi circoscriva il campo di vista

Dimensione del diaframma di campo

Di norma il diaframma di campo dovrebbe essere regolato in modo tale che quasi circoscriva il campo di vista. Un diaframma di campo eccessivamente aperto provocherà l'ingresso di luci spurie nel campo di vista generando riflessioni indesiderate con conseguente riduzione del contrasto dell'immagine. Esso provocherà inoltre una decolorazione del campione su un'area più estesa.

Dimensione appropriata del diaframma di campo

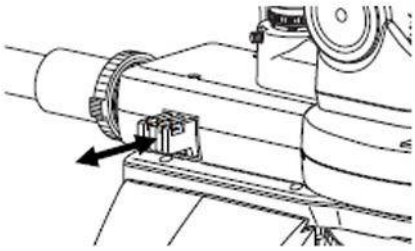
Regolazione del diaframma di campo

Quando aggiustare il diaframma di apertura

Assicurarsi di aggiustare il diaframma di apertura tutte le volte che si cambia l'obbiettivo.

11 Regolare la luminosità

Per regolare la luminosità usare i filtri ND sul dispositivo per epi-fluorescenza. Per l'aggiustamento della luminosità dell'immagine può essere usato anche il diaframma di apertura del dispositivo per epi-fluorescenza. Assicurarsi di centrare il diaframma di apertura prima dell'uso. (Vedi Capitolo 3, "14.4 Regolazione della luminosità dell'immagine in fluorescenza (Usando i filtri ND e il diaframma di apertura)").



Regolazione della luminosità usando i filtri ND

12 Osservazione del campione

Per osservare un'altra parte del campione ruotare le manopole del tavolino per trovare la posizione da osservare. Se il campione non è a fuoco ruotare le apposite manopole per regolare la messa a fuoco.

Per osservare con un diverso ingrandimento, ripetere i passi 6 e successivi con un altro obbiettivo.

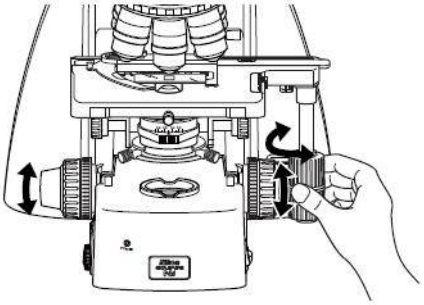
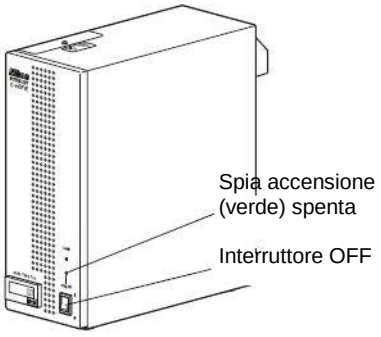


Immagine diascopica nella osservazione in fluorescenza

Per le osservazioni in fluorescenza premere in OFF lo switch ON/OFF del dia-illuminatore del microscopio per far scomparire l'immagine diascopica. Una brillante illuminazione dell'ambiente renderà difficile vedere l'immagine. Nikon raccomanda di mantenere la stanza al buio durante le osservazioni in fluorescenza.

Slider fittizio (dummy)

Quando si esegue una microscopia in epifluorescenza non inserire lo slider "dummy" (slider inserito nello slot dello slider analizzatore NI-FA FL/DIC) fornito con la torretta cubo epifluorescenza, fino a fine corsa. Se esso viene inserito completamente la periferia del campo può risultare scura.

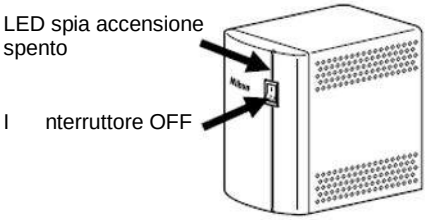


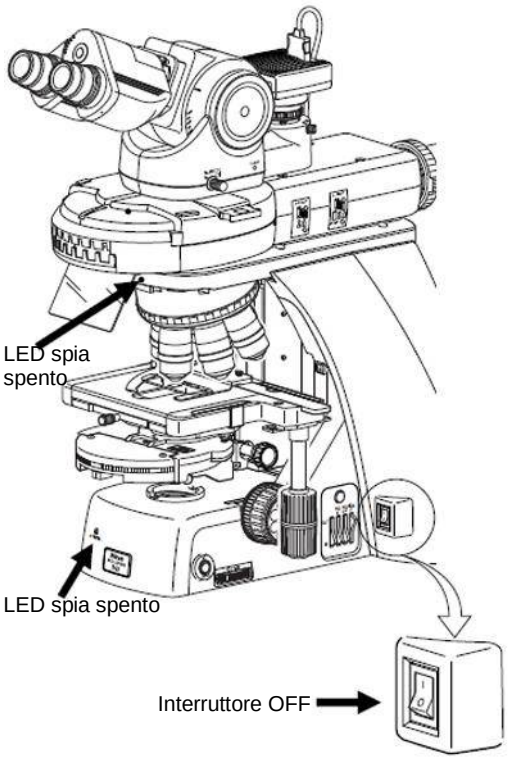
13 Spengere la lampada al mercurio

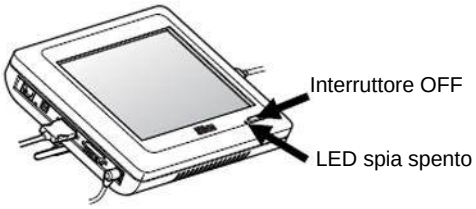
Per i dettagli consultare il manuale dell'illuminatore.

14 Spengere il microscopio

Spengere gli interruttori generali (mettere nella posizione “**O**”) della control box B e dei dispositivi motorizzati collegati. (Ogni LED di spia accensione si spengerà).







Spengere lo strumento

3 Operazioni di dettaglio

Questo capitolo descrive in dettaglio come usare ogni parte/dispositivo del Ni-U.

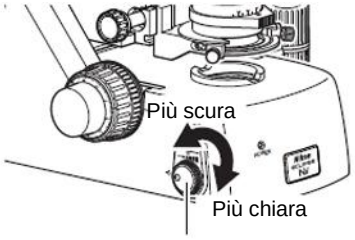
1 Regolazione della luminosità di un’immagine diascopica

La luminosità di un’immagine diacopica può essere aggiustata cambiando il voltaggio della lampada oppure usando i filtri ND.

1.1 Regolazione tramite il voltaggio della lampada

Ruotando il bottone di controllo della dia-illuminazione si cambia il voltaggio della lampada per cambiare la luminosità dell’immagine diascopica.

Bottone controllo luminosità	Luminosità dell’immagine
Rotazione oraria	Più luminosa
Rotazione antioraria	Meno luminosa
Posizione marca (In cui il bottone clicca in stop dopo aver rotato in direzione antioraria dopo il punto di minor luminosità.)	Luminosità per avere la miglior riproduzione del colore. (fotovoltaggio)

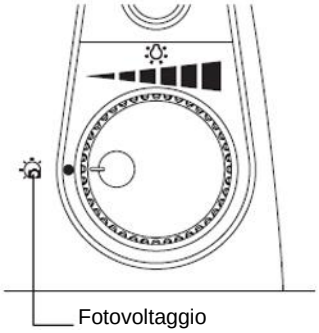


Bottone controllo intensità dia illuminazione

Regolazione luminosità

Impostazione fotovoltaggio: per una migliore riproduzione del colore

Cambiando il voltaggio della lampada per regolare la luminosità si influisce sul colore temperatura della lampada e si altera il bilanciamento del colore dell’immagine. Incrementando il voltaggio si avrà una colorazione bluastra mentre riducendolo si avrà una colorazione rossastra. Se si desidera un’accurata riproduzione del colore impostare il bottone di controllo luminosità della lampada di dia-illuminazione in corrispondenza della marca per aggiustare la luminosità della lampada al fotovoltaggio adatto alla produzione dell’immagine. (Il valore del fotovoltaggio è regolato e impostato al momento della spedizione e l’utente non può modificarlo). Per regolare ulteriormente la luminosità senza cambiamenti di colore, portare il filtro NCB11 nella cassetta filtro nel percorso ottico. Usare i filtri ND per l’aggiustamento.



Impostazione fotovoltaggio

Accensione della lampada, controllo regolazione luminosità

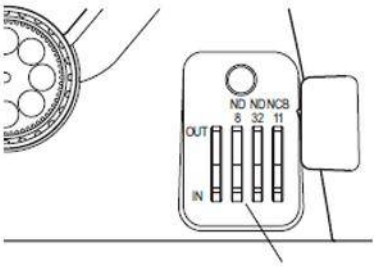
Quando al sistema è collegata una DS-L3, montando su Ni-U la control box B, impostando i bottoni delle schermate [MICROSCOPE CONTROL] o [CAM-MIC CONTROL] sulla Ds-L3, è possibile accendere la lampada o aggiustarne la luminosità tramite la DS-L3. Quando Ni-U viene acceso il controllo è assunto dagli switch operativi del microscopio.
Per eseguire le operazioni dalla DS-L3, premere il bottone di impostazione [LAMP CTRL] sulla DS-L3 per passare il controllo. Il controllo dalla DS-L3 è possibile quando il bottone è marcato col segno di spunta.

♦ Operazione da DS-L3 (vedi “19.2 Controllo del microscopio”) ♦

1.2 Regolazione tramite i filtri ND

I filtri ND sono usati per regolare l'intensità della luce. Numeri di filtro più alti corrispondono a una più bassa trasmittanza (cioè immagini più scure). Il bilanciamento del colore dell'immagine non cambierà. Ni-U ha una cassetta filtro incorporata con filtri ND8, ND32 e NCB11. Premendo lo switch IN/OUT per ND8 o ND32 verso il lato IN si porterà il corrispondente filtro ND nel percorso ottico.

ND8: Riduce l'intensità della luce a 1/8.
ND32: Riduce l'intensità della luce a 1/32.
ND8+ND32: Riduce l'intensità della luce a 1/256.



Switch filtro ND IN/OUT

Regolazione luminosità con i filtri ND

Aggiunta o cambiamento di filtrti ND

La cassetta filtri ha uno slot vuoto che può essere usato per un filtro ND addizionale. I filtri già montati possono essere rimossi e sostituiti con altri filtri. (Vedi capitolo 1 "3 Montaggio – 19 Sostituzione di un filtro ND").
Inoltre, è possibile montare fino a due filtri ϕ 45 mm sulla lente di campo.

2 Messa a fuoco del campione (Movimento verticale dello stadio)

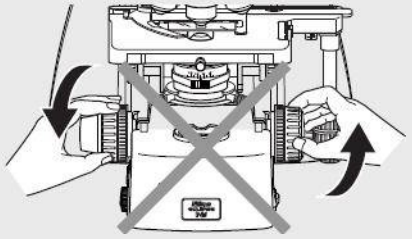
La luminosità di un'immagine diacopica può essere aggiustata cambiando il voltaggio della lampada oppure usando i filtri ND.

2.1 Corretta procedura di messa a fuoco

Nota sulla movimentazione del tavolino

Quando si azionano i bottoni di messa a fuoco evitare le azioni seguenti che potrebbe causare un malfunzionamento dell'apparecchiatura

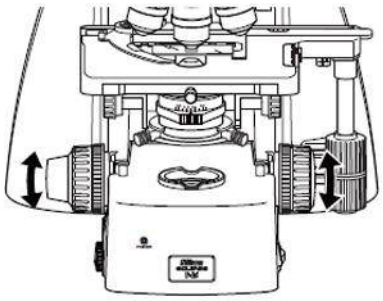
- Rotazione in sensi opposti delle manopole di messa a fuoco sinistra e destra
- Ruotare la manopola di messa a fuoco grossolana oltre il punto limite



Non ruotare le manopole di messa a fuoco in senso opposto!

Usando un obbiettivo ad alto ingrandimento può accadere che il campione venga premuto contro l'obbiettivo, danneggiandolo. Seguire la procedura sotto riportata per mettere a fuoco il campione ed evitare il rischio di rompere il vetro di copertura o di danneggiare l'obbiettivo.

(1) Portare nel percorso ottico l'obbiettivo 10x e ruotare la manopola di messa a fuoco grossolana per innalzare il tavolino fino al limite.
(2) Dirigere il 100% della luce nella sezione binoculare.
(3) Regolare la luminosità del dia illuminatore.
(4) Guardare nell'oculare e ruotare la manopola di messa a fuoco grossolana per abbassare il tavolino è mettere a fuoco il campione.
(5) Ruotare la manopola di messa a fuoco fine per regolare il fuoco.



Uso delle manopole per mettere a fuoco

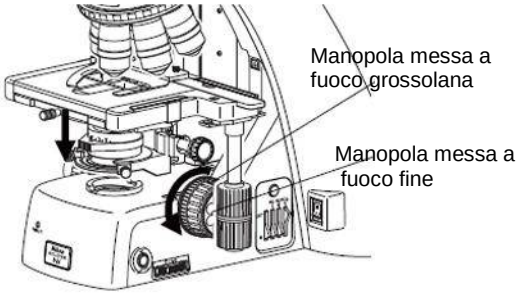
Suggerimenti per la messa a fuoco

- Quando si muove il tavolino con la manopola di messa a fuoco grossolana, togliere gli occhi dagli oculari e operare sul microscopio guardandolo di lato.
- Quando si lavora con la manopola di messa a fuoco grossolana, guardando negli oculari, si dovrebbe ruotarla solo nel senso che provoca un abbassamento del tavolino.
- Usare per primo un obbiettivo a basso ingrandimento per aggiustare il fuoco, quindi passare all'obbiettivo a più alto ingrandimento.
- Poiché gli obbiettivi 10x e 4x hanno una distanza di lavoro più ampia, il campione non tocca mai la punta dell'obbiettivo anche se il tavolino viene alzato fino al limite massimo, purchè si utilizzi un vetro di copertura di spessore standard. (Spessore standard 1.2 mm per il vetro della slide e 0.17 mm per il vetro di copertura).

2.2 Manopole di messa a fuoco sul corpo principale

Rotazione delle manopiole e movimento del tavolino

Ambedue le manopole di messa a fuoco, quella grossolana e quella fine, sono situate sui due lati del microscopio. La tabella seguente mostra la relazione che intercorre fra la rotazione delle manopole e il movimento del tavolino.



Rotazione manopole di messa a fuoco e movimento del tavolino

Per abbassare il tavolino	Ruotare la manopola verso l'operatore
Per alzare il tavolino	Ruotare la manopola verso il retro

Numero di giri delle manopole e corsa del tavolino

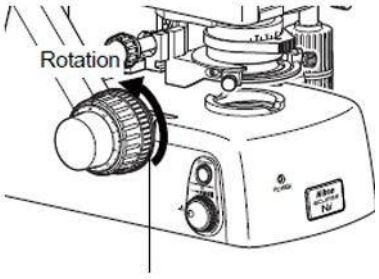
Numero di giri delle manopole di messa a fuoco e corsa del tavolino

No. di giri della manopola	Corsa del tavolino (direzione verticale)
Un giro della manopola di messa a fuoco grossolana	Circa 7.8 mm
Un giro della manopola di messa a fuoco fine	Circa 0.1 mm
Una graduazione scala della manopola di messa a fuoco fine	1 μm

La corsa del movimento verticale (messa a fuoco grossolana/fine) del tavolino va da circa 3 mm sopra il punto di fuoco (posizione di riferimento) a circa 26 mm sotto il punto di fuoco.

Regolazione della coppia di rotazione della manopola di messa a fuoco grossolana

Regolare la coppia di rotazione della manopola di messa a fuoco grossolana (resistenza alla rotazione) ruotando il bottone di regolazione coppia (TORQUE) situato alla base della manopola di messa a fuoco grossolana. Se la coppia è impostata troppo bassa, il tavolino può scendere sotto il suo proprio peso.



Regolazione della coppia di rotazione della manopola di messa a fuoco grossolana

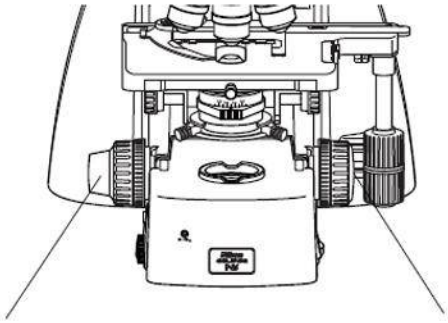
Se si ruota in direzione della freccia	La coppia di rotazione incrementa
Se si ruota in direzione opposta a quella della freccia	Si rende la manopola più facile da ruotare

Scambio di posizione della manopola di messa a fuoco fine

Le manopole di messa a fuoco fine, situate sui due lati del corpo principale, sono una piatta e l'altra convessa. Le manopole sono attaccate all'albero di rotazione mediante un magnete e possono essere facilmente scambiate.
Montatele nella posizione che meglio si adatta alle vostre abitudini di lavoro.

Rimozione della manopola di messa a fuoco piatta

Una manopola di messa a fuoco fine di tipo piatto può essere facilmente rimossa inserendo un cacciavite piano, o qualcosa di simile, nella tacca sulla manopola stessa.



Scambio di posizione della manopola di messa a fuoco fine

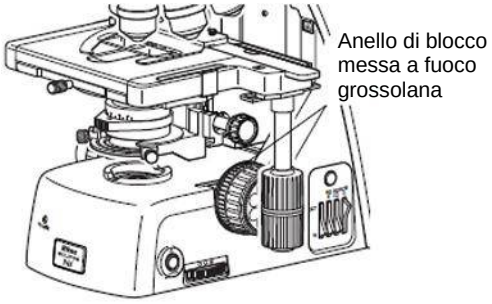
2.3 Rifuocamento

Dopo aver messo a fuoco il campione, ruotando l'anello di blocco della messa a fuoco grossolana, si può evitare che il tavolino venga ulteriormente alzato con la manopola di messa a fuoco grossolana. Il movimento del tavolino mediante la manopola di messa a fuoco fine non sarà bloccato.
Usando questa funzione, è possibile rimettere a fuoco con facilità semplicemente ruotando la manopola di messa a fuoco grossolana fino a fine corsa. Questo risulta utile quando si commuta fra campioni simili durante l'osservazione.

(1) Col campione a fuoco, serrare l'anello di blocco della messa a fuoco grossolana ruotandolo approssimativamente 3/4 di giro nella direzione della freccia riportata sulla base del microscopio. Così facendo si bloccherà il movimento della manopola grossolana.

(2) Quando si sostituisce il campione, abbassare il tavolino usando solo la manopola di messa a fuoco grossolana.

(3) Dopo aver sostituito il campione, usare solo la manopola di messa a fuoco grossolana per alzare il tavolino lentamente fino a quando non raggiunge il punto di fine corsa. A questo punto il campione dovrebbe essere più o meno a fuoco. Usare la manopola di messa a fuoco fine per eseguire un eventuale aggiustamento. Se non si desidera usare la funzione di rifuocamento, assicurarsi di allentare l'anello di blocco della messa a fuoco grossolana fino al limite (ruotarlo in direzione opposta a quella indicata dalla freccia sulla base del microscopio fino al limite).



Uso dell'anello di blocco messa a fuoco grossolana

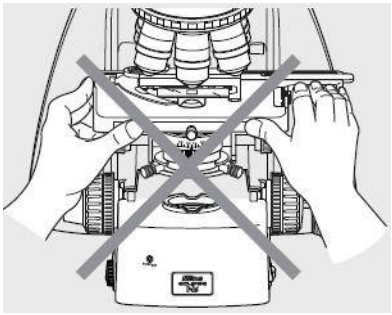
3 Portare il particolare di interesse nel percorso ottico (Movimento orizzontale del tavolino, Rotazione)

Usare le manopole X, Y del tavolino o ruotare la parte superiore del tavolino per muovere il campione e portare la zona di interesse nel percorso ottico. (In questo modo il campione, sigillato sotto il vetro di copertura, verrà illuminato).

Nota sulla movimentazione del tavolino

Quando si azionano i bottoni di messa a fuoco evitare le azioni seguenti che potrebbe causare un malfunzionamento dell'apparecchiatura

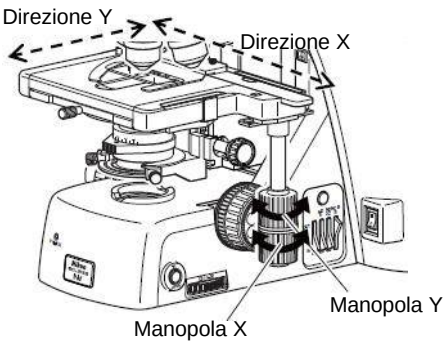
- Muovere il tavolino verso destra o sinistra tenendo direttamente la superficie superiore del tavolino stesso.
- Forzare il tavolino a muoversi o ruotare oltre la corsa X/Y o oltre il massimo angolo di rotazione consentito.



Non muovere il tavolino direttamente con le mani!

Rotazione manopole e movimento orizzontale del tavolino

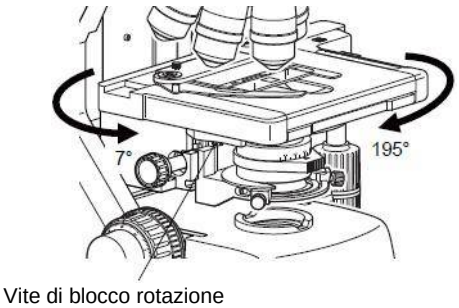
Per muovere il tavolino nelle direzioni X o Y, ruotare la manopola X o Y.
La corsa di lavoro del tavolino è 78 mm x 54 mm.



Rotazione delle manopole e movimento del tavolino

Rotazione del tavolino

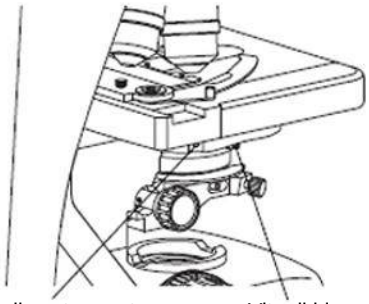
Il tavolino ceramico rotante permette di ruotare il campione sotto osservazione. Per aggiustare l'orientamento del campione, allentare la vite di blocco rotazione sul tavolino e quindi ruotare il tavolino stesso quanto necessario. Questa possibilità è utile per allineare il campione con la direzione di taglio per migliorare il contrasto nella microscopia a contrasto di interferenza differenziale.
Il tavolino può ruotare fino a 195° in senso orario e 7° in senso antiorario dalla posizione base ad angolo di rotazione 0°.

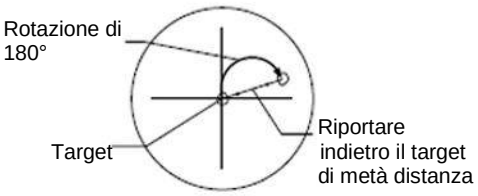


Rotazione del tavolino

Centramento del tavolino rotante

(1) Portare nel percorso ottico l'obbiettivo 10x e mettere a fuoco il campione. Identificare un punto individuabile del campione come target. Usando le manopole del tavolino portare il target al centro del campo di vista.
(2) Allentare la vite di blocco rotazione del tavolino, quindi ruotarlo di 180°.
(3) Se il target si sposta allontanandosi dal centro del campo di vista, ruotare le due viti di centramento del tavolino con un cacciavite esagonale per riportare il target indietro di metà percorso verso il centro.
(4) Usare le manopole del tavolino per riportare il target al centro del campo di vista.
(5) Portare nel percorso ottico l'obbiettivo 40x e ripetere i passi da 2 a 4.





Centramento del tavolino ruotante

- Le due viti di centramento del tavolino sono situate sul retro della sezione di elevazione del tavolino.
- Usare due cacciaviti esagonali a punta arrotondata per operare sulle viti di centramento.
- Dopo aver centrato il tavolino, usare le viti di blocco rotazione del tavolino per fissare sulla posizione il tavolino stesso.
- La vite di posizionamento tavolino è sul frontale della sezione di elevazione.

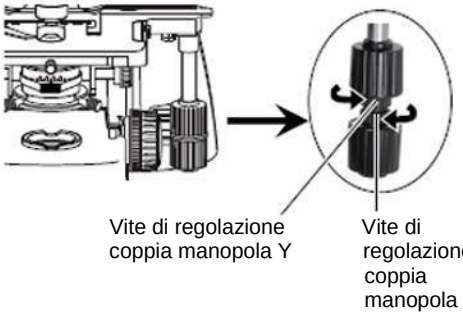
Regolazione dell'altezza delle manopole

Le altezze (posizioni) delle due manopole X e Y possono essere cambiate. Tenere la manopola e spostarla lungo l'asse verticale fino all'altezza desiderata.

Regolazione della coppia di rotazione delle manopole

Se le manopole X e Y vengono spostate nelle posizioni più alta e più bassa, si possono trovare fra le manopole stesse, le viti di regolazione della coppia. Ruotando la vite di regolazione per portarla più vicina alla rispettiva manopola si incrementa la coppia di rotazione. (Per incrementare la coppia, ruotare la vite di regolazione in senso antiorario per la manopola Y e in senso orario per la manopola X, guardando dall'alto).

Evitare di allentare eccessivamente queste viti. Se esse risultano troppo allentate, la superficie superiore del tavolino potrebbe muoversi anche se toccata molto leggermente.



Regolazione della coppia di rotazione delle manopole del tavolino

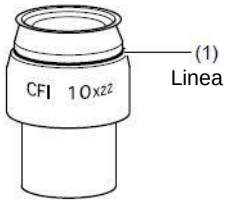
4 Regolazione diottrica

L’anello di regolazione diottrica presente sugli oculari, può essere aggiustato per adattare il sistema alle caratteristiche visive degli occhi destro e sinistro dell’osservatore. Una corretta regolazione diottrica compensa le differenze di acuità visiva esistenti fra i due occhi dell’osservatore, facilitando la visione binoculare. Essa minimizza anche le deviazioni di focale quando si commuta ingrandimento, ottimizzando le prestazioni dell’obbiettivo.

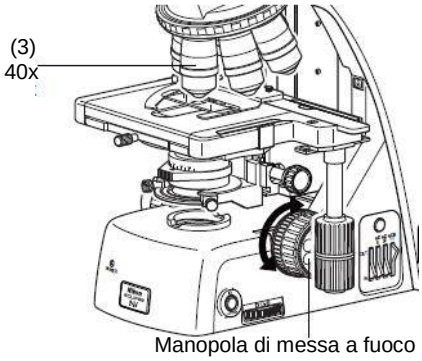
Eseguire la regolazione diottrica per ambedue gli oculari.

(1) Ruotare l’anello di regolazione diottrica sull’oculare sinistro e destro per allineare la faccia estrema dell’anello con la linea. (Questa è kla posizione di riferimento della regolazione diottrica).
(2) Eseguire i passi da 1 a 8 elencati nel capitolo 2, “2 Microscopia in campo chiaro/scuro” per mettere a fuoco il campione utilizzando un obbiettivo 10x.
(3) Ruotare il portaobiettivi per portare nel percorsop ottico l’obbiettivo 40x e ruotare le manopole di messa a fuoco (grossolana e fine) per mettere a fuoco il campione.
(4) Portare nel percorso ottico l’obbiettivo 10x (o 4x).
(5) Guardare nell’oculare destro con l’occhio destro senza toccare le manopole di messa a fuoco e quindi mettere a fuoco il campione ruotando l’anello di regolazione diottrica di destra.
(6) Guardare nell’oculare sinistro con l’occhio sinistro. Senza azionare le manopole di messa a fuoco, mettere a fuoco il campione ruotando l’anello di regolazione diottrica di sinistra.
(7) Ripetere i passi da 3 a 6 per assicurarsi che la messa a fuoco sia stata eseguita correttamente.

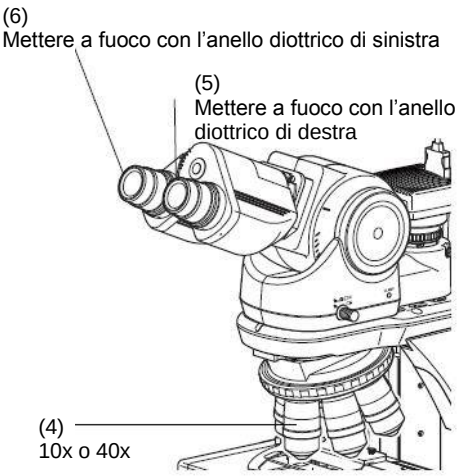
.



Allineamento della faccia estrema dell’anello di regolazione con la linea



Mettere a fuoco con l’obbiettivo 40x

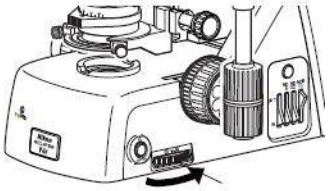


Mettere a fuoco usando gli anelli diottrici destro e sinistro con 10x o 4x

5 Messa a fuoco e centramento del condensatore

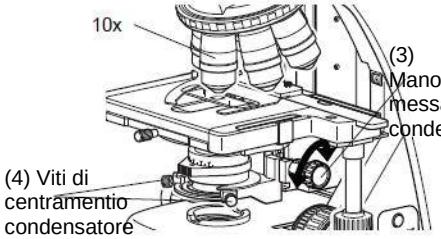
Regolare la posizione del condensatore in modo tale che la luce che gli passa attraverso formi un'immagine nella posizione corretta (centro del percorso ottico) sulla superficie del campione.

(1) Eseguire i passi da 2 a 10 descritti nel capitolo 2, "2 Microscopia in campo chiaro/scuro" per mettere a fuoco il campione utilizzando un obbiettivo 10x.
(2) Ruotare il selettore del diaframma di campo completamente in senso antiorario per minimizzare il diaframma di campo.
(3) Guardando nell'oculare è possibile vedere l'immagine del diaframma nel campo di vista. Usare la manopola di messa a fuoco del condensatore per aggiustare in modo tale che l'immagine del diaframma di campo appaia chiaramente scontornato.
(4) Regolare le viti di centramento fino a quando l'immagine del diaframma di campo non è al centro del campo di vista dell'oculare.
(5) Portare l'obbiettivo 40x nel percorso ottico. Osservare l'immagine del diaframma di campo, se il contorno dell'immagine non è a fuoco, usare la manopola di messa a fuoco del condensatore per aggiustare la messa a fuoco nel modo migliore possibile.
(6) Ruotare il selettore del diaframma di campo per aggiustare in modo tale che la dimensione dell'immagine del diaframma di campo sia quasi la stessa del campo di vista.
(7) Se il centro dell'immagine del diaframma di campo non risulta centrato, ruotare le viti di centramento del condensatore per portare l'immagine del diaframma di campo nel centro del campo di vista. Questo risulterà più facile se si regola l'apertura del diaframma di campo in modo tale che risulti leggermente più piccola del campo di vista dell'oculare.

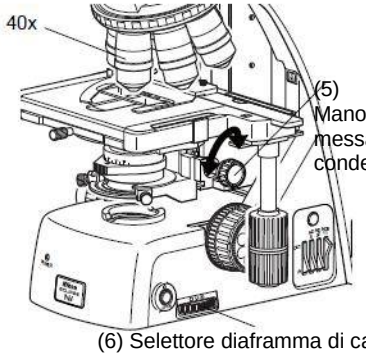


(2) Selettore diaframma di campo

Portare il diaframma di campo alla minima impostazione

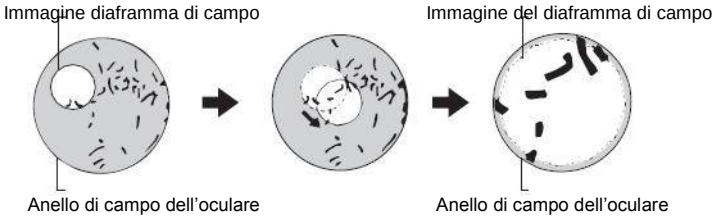


Mettere a fuoco l'immagine del diaframma di campo e portarla al centro del campo di vista



(6) Selettore diaframma di campo

Mettere a fuoco l'immagine del diaframma di campo e aprire il diaframma di campo



Corretta messa a fuoco dell'immagine del diaframma di campo

Se il contorno dell'immagine del diaframma di campo è rossastro o bluastro è stato ruotata troppo la manopola di messa a fuoco del condensatore. Quando il contorno non ha colore la messa a fuoco è corretta.

Vista dell'immagine del diaframma di campo con l'obbiettivo 40x

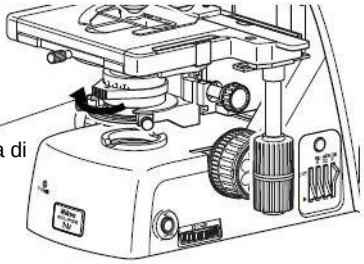
L'immagine del diaframma di campo messa a fuoco con l'obbiettivo 40x può non essere vista così chiaramente se la messa a fuoco è fatta con l'obbiettivo 10x.

6 Aggiustamento del diaframma di apertura

Il diaframma di apertura è usato per aggiustare l'apertura angolare dell'illuminazione ed è importante in quanto esso influisce sulla risoluzione, sul contrasto, sulla profondità di fuoco e sulla luminosità dell'immagine ottica.

Ruotando la leva del diaframma di apertura si cambia la dimensione del diaframma stesso.

Ruotando la leva in senso orario si apre il diaframma.



Aggiustamento del diaframma di apertura

Dimensione corretta del diaframma di apertura.

Normalmente la corretta dimensione del diaframma di apertura risulta essere dal 70 all' 80% dell'apertura numerica dell'obbiettivo. Saranno prodotte così immagini soddisfacenti con l'adeguato contrasto. Poiché un'apertura eccessivamente ridotta del diaframma degraderà la risoluzione dell'immagine, non è raccomandabile di impostare il diaframma di apertura al di sotto del 60% dell'apertura numerica dell'obbiettivo.

Una piccola apertura del diaframma riduce risoluzione e luminosità ma incrementa il contrasto e la profondità di fuoco. Al contrario, una grande apertura incrementa la risoluzione e la luminosità ma riduce il contrasto e la profondità di fuoco. Queste caratteristiche implicano un inevitabile compromesso e non possono essere ottimizzate indipendentemente.

Pupilla dell'obbiettivo

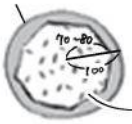


Immagine del diaframma di apertura

Corretta dimensione del diaframma di apertura

Relazione fra la dimensione del diaframma di apertura e lo stato dell'immagine ottica

Posiz. APERTURA	Risoluzione	Luminosità	Contrasdto	Profondità di fuoco
Al minimo	Più bassa	Più scura	Maggiore	Maggior profiondità
Aperto	Più alta	Più luminosa	Minore	Minor profiondità

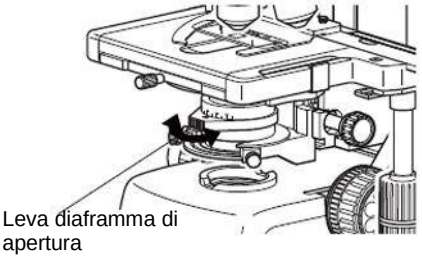
Quando aggiustare il diaframma di apertura.

Assicurarsi di aggiustare il diaframma di apertura tutte le volte che si cambia obbiettivo.

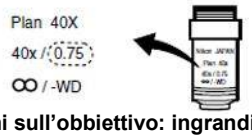
Regolazione della coppia di rotazione delle manopole

Il condensatore ha una scala che indica il numero di apertura. L'indice sulla leva del diaframma di apertura dovrebbe essere allineato con la linea della scala che corrisponde al 70 – 80% dell'apertura numerica dell'obbiettivo.

L'apertura numerica è indicata di lato sull'obbiettivo. Per un'apertura numerica di 0.75, l'indice dovrebbe essere allineato con la scala del condensatore fra 0.525 e 0.6 .



Aggiustamento del diaframma di apertura



Indicazioni sull'obbiettivo: ingrandimento 40x / apertura numerica 0.75

Apertura corretta: 0.75 x 0.7 ~ 0.8 = 0.525 ~ 0.6

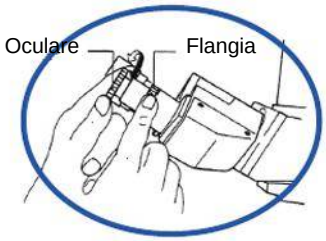
Aggiustamento del diaframma di apertura usando il Telescopio di Centramento.

(1) Rimuovere un oculare e montare al suo posto il telescopio di centramento utilizzando l'adattatore.

(2) Ruotare la leva del diaframma di apertura per impostare la minima apertura. Mentre si tiene la flangia del telescopio di centramento, ruotare l'oculare del telescopio e mettere a fuoco il diaframma di apertura.

(3) Ruotare la leva del diaframma di apertura per aggiustare l'apertura. Di norma il diaframma di apertura dovrebbe essere aggiustato al 70 – 80% della dimensione del campo di vista.

(4) Rimuovere il telescopio di centramento e l'adattatore e rimontare l'oculare.



Uso del telescopio di centramento

7 Condensatore

Ni-U viene usato sia con un condensatore universale (tipo a secco) che supporta tutti i metodi di microscopia (campo chiaro, campo scuro, contrasto di interferenza differenziale e contrasto di fase), sia con vari condensatori a funzionamento manuale. Selezionare il condensatore ottmale per l'ingrandimento dell'obbiettivo e la procedura di microscopia.

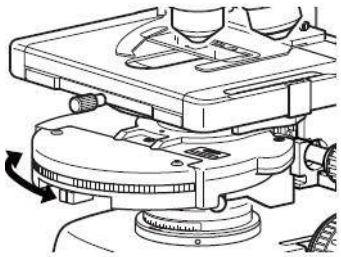
7.1 Operazioni sul condensatore universale

Il condensatore universale può supportare i metodi di microscopia in campo chiaro, in campo scuro, a contrasto di interferenza differenziale e a contrasto di fase utilizzando i corrispobnedenti moduli ottici nella torretta. La microscopia viene eseguita inserendo nel percorso ottco il modulo ottico corrispondente.

- Modulo ottico peer microscopia a contrtasto di interferenza differenziale:
  Modulo DIC [D-C DIC N1 DRY], [D-C DIC N2 DRY], [D-C DIC NR DRY]
- Modulo ottico peer microscopia a contrtasto di fase: modulo PH [D-C PH-1], [D-C PH-2], [D-C PH-3]
- Modulo ottico per microscopia in campo scuro:
  Modulo campo scuro [D-C DF] (supporta obbiettivi con aperture numeriche di 0.7 o inferiori)
- Modulo ottico per microscopia in campo chiaro a basso ingrandimento:
  lente ausiliaria 2-4x [NI-CAL N1], lente ausiliaria 2-4x [D-C 2-4x] (il diametro è differente).

La torretta ha un'alloggio vuoto e sei alloggi per il montaggio dei moduli ottici. L'alloggio vuoto ha l'indirizzo 1 e in esso non possono essere montati i moduli ottici. Il modulo ottico desiderato può essere montato negli alloggi contraddistinti con indirizzi da 2 a 6. Selezionare i moduli appropriati in funzione dell'obbiettivo e dello scopo della microscopia. (Vedere "Microscopia in campio scuro", "15 Microscopia a contrasto di interferenza differenziale" e "16 Microscopia a contrasto di fase").

L'indirizzo della torretta in cui è montato il modulo ottico è predeterminato. (Per infomazioni sul montaggio vedere il capitolo 1 "3 Montaggio" – 13 Montaggio del condensatorte - ■ Montaggio del modulo ottico sul condensatore universale" in "Montaggio/Manutenzione").

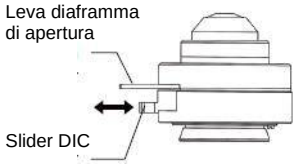


Rotazione della torretta del condensatore

I moduli ottici possono essere commutati ruotando direttamente la torretta. Il modulo ottico indicato sul frontale della torretta è quello nel percorso ottico. Sul rertro del condebnsatore universale ci sono le viti di centramento del modulo PH e un bottne usato per sollevarlo quando si lavora sulla vite di centramento. Lasciare il bottone nella posizione abbassata quando è inutilizzato. Centrare i modulo PH seguendo quando descritto in capitolo 2, "Microscopia a contrasto di fase" – **14** Centrare il modulo PH"

7.2 Operazioni su altri condensatori manuali

Ci sono altrti condensatori: condensatore DIC in olio, in cui vengono cambiati gli slider con il modulo otico montato o il condensatore in cui i modukli ottici per il contrasto di fase sono incorporati nella torretta. Ruotare la torretta o inserire lo slider in modo tale che i moduli ottici siano correttamente portati nel percorso ottico. Assicurarsi che la torretta sia nella posizione di "click stop". Premerte lo slider fino a fine corsa e evitare di lasciarlo in una posizione intermedia quand si rimuove. Per i condensatori in cui la lente superiore deve essere ruotata a seconda dell'ingrandimento dell'obbiettivo, operare con l'apposti dispositivo che permette la rotazione. In questo caso, assicurarsi che la lente superiore sia completamente ruotata o portata nel percorso ottico.



Compatibilità del tipo di condensatore e obbiettivo (◙ : ottima ; ○ : buona ; X : NG)

L'uso di un condensatore può essere limitato in funzione dell'ingrandimento dell'obbiettivo. Vedere la tabella seguente per selezionare il condensatore corretto.

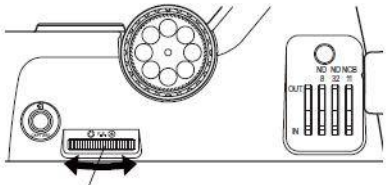
Tipo di condensatore	Ingrandimento dell'obbiettivo				Note
	1x	2x	4x	10x ~ 100x	
Condensatore universale (Dry)	X	○*1	○*1	◙	Nota: per 2x e 4x , può essere usato solo campo chiaro portando nel percorso ottico le lenti ausiliarie 2-4x
Condensatore DIC (Oil)	X	X	X	◙	
Condensatore a torretta C-C fase	X	X	○*4	○	Non può essere usato con tavolino ceramico rotante. Nota 4: se è montato un oculare UW può non essere coperto l'intero campo di vista
Condensatore 1 – 100x acromatico C-C Swing-out	○*2	◙*2	◙*2	◙	Nota 2: prima di usare ruotare la lente superiore
Condensatore slide acro C-C 2 – 100x	X	◙*3	◙*3	◙*3	Non usare questo condensatore con un obbiettivo acromatico o plan acromatico. Nota 3: per gli obbiettivi con ingrandimento 10x o superiore, estrarre la slide. Per gli obbiettivi con ingrandimento 2x o 4x inserire la slide per evitare vignettature.
Condensatore X LWD	X	X	○	○	
Condensatore Abbe C-C No. 9 Condensatore Acromatico C-C No. 9	X	X	○*4	○	Nota 4: se è montato un oculare UW può non essere coperto l'intero campo di vista
Condensatore Aplanatico C-C	X	X	X	◙	
Condensatore campo scuro (Oil) e (Dry)	X	X	X	○*5	Nota 5: In olio supporta obbiettivi con apertura numerica di 1.1 o inferiore. A secco supporta obbiettivi con apertura numerica di 0.75 o inferore. Inoltre, in olio supportta obbiettivi con ingrandimento 20x o superire.

Note sull'uso del condensatore

A seconda del tipo di obbiettivo, l'apertura numerica indicata può non essere raggiunta.

8 Aggiustamento del diaframma di campo

Il diaframma di campo è usato per restringere l'illuminazione all'area del campione che viene effettivamente vista.
Ruotando il selettore del diaframma di campo si cambia la dimensione del diaframma stesso.
Il diaframma di campo si chiude quando si ruta il selettore in senso orario.
Per le normali osservazioni, la dimensione del diaframma dovrebbe quasi circoscrivere il campo di vista.



Aggiustamento del diaframma di campo

Corretta dimensione del diaframma di campo

Dimensione corretta del diaframma di campo.

Normalmente la dimensione è ottimale quando circoscrive all'incirca il campo di vista. Aprendo troppo il diaframma di campo e illuminando un'area più estesa del necessario si produrranno luci spurie che entreranno nel campo di vista generando bagliori e riducendo il contrtasto dell'immagine. Inoltre, il campione si decolorerà su un'area più estesa.

Quando aggiustare il diaframma di campo

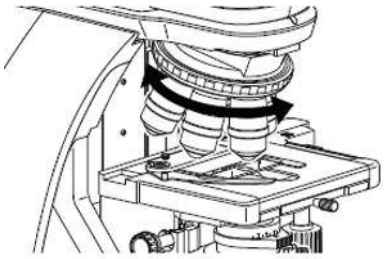
Assicurarsi di aggiustare il diaframma di campo tutte le volte che si cambia l'obbiettivo.

9 Commutazione dell'obbiettivo

Nell' Ni-U può essere usato qualunque tipo di porttaobbiettivi: manuale, intelligente e motorizzato.
Per pilotare il portaobbiettivi motorizzato, il braccio di contatto e la control box B devono essere connessi per realizzare la cionfigurazione di microscopio motorizzatio e per l'azionamento può essere usato un seplice telecomando o la DS-L3.

9.1 Azionamento del portaobbiettivi manuale/intelligente

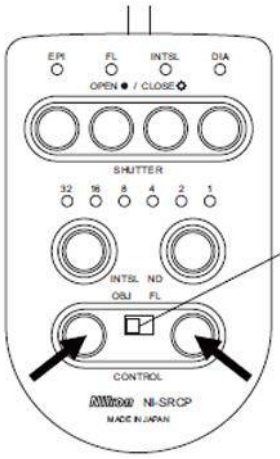
Per commutare l'obbiettivo usando un portaobbiettivi manuale o intelligente, occorre ruotare manualmente il portaobbiettivi stesso. Ruotare il portaobbiettivi in modo tale che l'obbiettivo si arresti correttamente nella posizione di "click stop".
Montare l'obbiettivo in modo tale che l'ingrandimento incrementi quando il portaobbiettivi viene ruotato in senso orario visto da sopra. Quando si usa un portaobbiettivi intelligente, configurando le informazioni di montaggio dell'obbiettivo sulla DS-L3, è possibile visualizzare sullo schermo della stessa DS-L3 le informazioni dell'obbiettivo.



Azionamento del portaobbiettivi manuale

9.2 Azionamento del portaobbiettivi motorizzato

Per commutare gli obbiettivi montati sul portaobbiettivi motorizzato, agire sui bottoni CONTROL rotatio/reverse rotation del telecomando. Prima di fare questo assicurarsi che lo switch di selezione a cursore OBJ/FL sia nella posizione [OBJ].
Il portaobbiettivi ruota nell'indirizzo adiacente in senso orario/antiorario tutte le volte che viene premuto un bottone CONTRL.
Configurando le informazioni di montaggio dell'obbiettivo sulla DS-L3, è possibile visualizzare sullo schermo della stessa DS-L3 le informazioni dell'obbiettivo
♦ Per le operazioni con la DS-L3 (vedere "19.2 Controllo del microscopio" ♦



Rotazione del portaobbiettivi

<u>Disabilitazione della rotazione inversa del portaobbiettivi motorizzato</u>

Quando l'obbiettivo viene commutato verso un obiettivo a più elevato ingrandimento, l'estremità dell'obbiettivo può entrare in collisione col campione. Per evitare questo si può disabilitare la rotazione dall'indirizzo 1 all'indirizzo 6 (per il portaobbiettivi sestuplo) o dall'indirizzo 1 al vicino indirizzo 7 (per gli obbiettivi settuplo).
Per eseguire questa configurazione, deve essere montato l'obbiettivo motorizzato. Per default il sistema è impostato nelo stato "No rotation stop".
La configurazione viene eseguita sulla DS-L3 (vedi "19 Operazioni sulla DS-L3" – "19.1 Impostazione del microscopio – (14.1) NOSEPIECE REVERSE ROTATION").

Commutazione fra due obbiettivi configurati col portaobbiettivi motorizzato

La funzione “toggle” permette di osservare il campione commutando alternativamente fra due obbiettivi preconfigurati. Per commutare fra i due obbiettivi, usare i bottoni di rotazione forward/reverse del portaobbiettivi situati sul microscopio o sull’ergo controller. Possono essere configurtati due paia di obbiettivi: “toggle pattern 1” e “toggle pattern 2”.

Per eseguire questa configurazione, deve essere montato un portaobbiettivi motorizzato.Per default, il sistema è impostato nello stato “Toggle operation OFF”.

La configurazione viene eseguita sulla DS-L3 (vedi “19 Operazioni sulla DS-L3” – “19.1 Impostazione del microscopio – (4.2) NOSEPIECE TOGGLE”)

Rotazione inversa del portaobbiettivi e commutazione fra due obbiettivi.

Se “NOSEPIECE REVERSE ROTATION” e “NOPSEPIECE TOGGLE” sono configurati contemporaneamente, quando il portaobbiettivi viene azionato dalla DS-L3 o dal PC connesso tramite USB, il sistema si comprta come segue:

<Esempio>

Se è “NOSEPIECE REVERSE ROTATION: NOT LIMITED” e “Toggle pattern 1: 1,6”

- Caso 1: se il portaobbiettivi è all’indirizzo 1, premendo il bottone CONTROL rotation/reverse rotation sul telecomando, l’obbiettivo è commutato nell’ordine di 1→2→3→4→5→6.
- Caso 2 : se il portaobbiettivi è all’indirizzo 6, premendo il bottone CONTROL rotation/reverse rotation sul telecomando, l’obbiettivo è commutato nell’ordine di 6→5→4→3→2→1.
- Caso 3 : se il portaobbiettivi è all’indirizzo 1, premendo il bottone per l’indirizzo 6 sulla schermata [MICROSCOPE CONTROL] della DS-L3 l’obbiettivo è commutato nell’ordine di 1→2→3→4→5→6.
- Caso 4 : se il portaobbiettivi è all’indirizzo 6, premendo il bottone per l’indirizzo 1 sulla schermata [MICROSCOPE CONTROL] della DS-L3 l’obbiettivo è commutato nell’ordine di 6→5→4→3→2→1.

10 Commutazione del percorso ottico del tubo

In un tubo dotato di leva di commutazione del percorso ottico, la distrtibuzione della luce può essere controllata azionando la suddetta leva (o il selettore nel caso del tubo quadroculare inclinabile).

Commutazione del percorso ottico

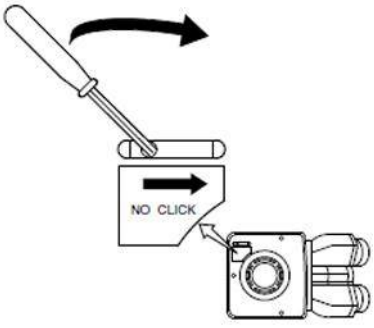
Distribuzione della luce commutando il percorso ottico

	Posizione della leva/selettore di commutazione del percorso ottico	Distrubuzione della luce (%)		
		Sezione binoculare	Adattatore tubo	Porta posteriore
Tubo quadroculare inclinabile NI-TT	Indice [B]	100	0	0
	Indice [F]	0	100	0
	Indice [R]	0	0	100 (alla porta zoom NI-RPZ DC)
Tubo ergonomico C-TE2	Inserito	100	0	----------
	Disinserito	50	----------	50 (alla porta DSC C-TEP2)
Tubo T trinoculare C-TT o C2-C-TT	Inserito	100	0	----------
	Disinserito una tacca	20	80	----------
	Disinserito due tacche	0	100	----------
Tubo F trinoculare C.-TF	Inserito	100	0	----------
	Disinserito	0	100	----------

Disabilitazione del "click" quando si commuta il percorso ottico.

Il Tubo Trinoculare T C-TT e il Tubo Trinoculare F C-TF hanno lo switch "NO CLICK" sulla loro superficie di attacco. Scorrere questo switch nella direzione della freccia, usando l'estremità di un utensile appuntito, per disabilitare il "click" della leva di commutazione percorso ottico. Impostare lo switch in questa posizione se si ha necessità di eliminare le leggere vibrazioni che provocate dall'azionamento del "click".

Inoltre, sul tubo quadroculare inclinabile NI-TT, c'è una vite di fissaggio a testa esagonale sulla montatura del tubo dell'oculare (dimensione utensile 4). Ruotando la vite, mentre si preme, nella direzione mostrata in figura si elimina il click del bottopne quando si commuta il percorso ottico. Usarla quando si ha necesità di eliminare le leggere vibrazioni che provocate dall'azionamento del "click".



Disabilitazione del click quando si commuta il percorso ottico

Disabilitazione del click nel tubo quadroculare

11 Aggiustamento della sezione binoculare

11.1 Aggiustamento con la sezione binoculare del tubo

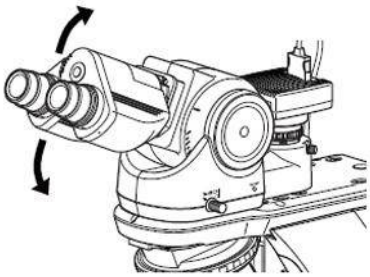
La sezione binoculare di un tubo ergonomico o di un tubo quadroculare può essere inclinata. La sezione binoculare di un tubo ergonomico può anche essere estesa lungo l'asse ottico. Regolare la posizione della sezione binoculare per una visione più confortevole.

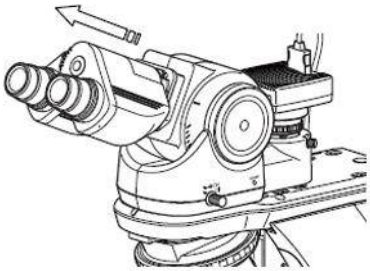
Campo di aggiustamento

- Tubo ergonomico: da 10° a 30°
- Tubo quadroculare inclinabile: da 15° a 35°

Campo di estensione:

- Tubo ergonomico: 40 mm

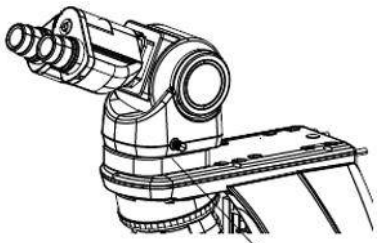




Aggiustamento della sezione binoculare

11.2 Uso dell'innalzatore livello occhi

Inserendo l'innalzatore del livello occhi fra il tubo e il braccio del microscopio si può innalzare il punto occhi di 25 mm.



Innalzatore livello occhi

Montaggio dell'innalzatore livello occhi

12 Immersione in olio / immersione in acqua

Immersione in olio

Un obbiettivo con che riporta la marcatura “Oil” è un obbiettivo ad immersione in olio. Un obbiettivo di questo tipo deve essere usato con uno speciale olio da immersione non fluorescente applicato fra il campione e l’estremità dell’obbiettivo.
Per massimizzare la prestazione un obbiettivo ad immersione in olio con un’apertura numerica di 1.0 o supèeriore, dovrebbe essere combinato con un condensatore acromatico, aplanatico ad immersione in olio.
Quando si usa un condensatore ad immersione in olio, applicare l’olio da immersione specificato non fluorescente fra il vetro della slide e l’estremità dell’obbiettivo del condensatore. I condensatori ad immersione sono corretti dalle aberrazioni nell’ipotesi che siano immersi in olio. Per questa ragione l’olio deve essere applicato l’olio fra il vetro della slide e il condensatore, indipendentemente dal fatto che l’obbiettivo sia del tipo ad immersione in olio. Per applicare l’olio al condensatore, rimuovere il campione dal tavolino, abbassare il condensatore ruotando la manopola di messa a fuoco del condenstaore e quindi applicare gocce di olio all’estremità del condensatore.

Usare meno olio possibile (appena sufficiente per riempire lo spazio fra l’estremità dell’obbiettivo e il campione o fra l’estremità del condensatore e il campione), facendo attenzione a non formare bolle. Usare poco olio poiché la quantità in eccesso si spanderà sul tavolino e intorno al condensatore. I condensatori ad immersione hanno una speciale fossetta per la raccolta dell’olio in eccesso, ma qualora l’olio uscisse dalla fossetta potrebbe contaminare il modulo DIC e/o l’interno del condensatore. Dall’altra parte, una quantità di olio insufficiente può favorire l’ingresso dell’aria fra il vetro della slide e il condensatore, degradando le prestazioni del condensatore.

Non applicare olio da immersione al condensatore a secco.
Il condensatore universale e destinato ad un uso “a secco”. Non applicare ad esso l’olio da immersione. Quando si utilizzano altri condensatori destinati ad un uso “a secco”, non applicare olio da immersione fra il condensatore e il campione.

Bolle d’aria nell’olio

Qualunque bolla presente nell’olio da immersione degraderà la qualità dell’immagine. Fare attenzione per evitare il formarsi delle bolle. Per verificare la presenza di bolle, aprire completamente i diaframmi di campo e di apertura, rimuovere l’oculare ed esaminare la pupilla d’uscita (sezione rotonda luminosa) dell’obbiettivo all’interno del tubo oculare. Se risulta difficikle accertare la presenza di bolle, montare un telescopio di centramento per aggiustare il fuoco. Se si rilevano bolle, rimuoverle utilizzando uno dei metodi seguenti:

- Ruotare leggermente il portaobbiettivi per muovere l’obbiettivo immerso in olio avbanti e indietro una o due volte. In caso del condensatore, ruotare delicatamente la manopola di messa a fuoco del condensatore per muovere il condensatore stesso leggermente in alto e in basso.
- Aggiungere altro olio
- Rimuovere l’olio e applicare nuovo olio.

Rimozione dell’olio

L’olio che resta sull’obbiettivo ad immersione o che aderiscve all’obbiettivo di tipo a secco degrada significativamente la qualità dell’immagine. Dopo l’uso, rimuovere con cura tutto l’olio e assicurarsi che non ne resti sull’estremità degli altri obbiettivi. Inoltre, rimuovere accuratamente l’olio dal condensatore. Per rimuovere l’olio da immersione usare benzina rettificata. Per un ottimo risultato, Nikon raccomanda di ripulire con alcol puro (etilico metilico) dopo aver ripulito con benzina rettificata.
Se non è disponibile la benzina rettificata, usare slo alcol metilico. Quando si usa solo alcol metilico, notare che le superfici avranno bisogno di essere passate ripetutamente per assicurare una completa rimozione dell’olio. (Normalmente, tre o quattro volte dovrebbero essere sufficienti per pulire l’obbiettivo).

ATTENZIONE

- La benzina rettificata e l'alcol puro usati per rimuovere l'olio da immersione sono altamente infiammabili. Fare attenzione quando si maneggiano questi prodotti, in particolare nei pressi di fiamme libere o quando si accende o si spenge un interruttore generale.
- Quando si usa l'alcol puro seguire le istruzioni fornite dal produttore.

Immersione in acqua

Un.obbiettivo che riporta la marcatura "WI" o "W" è un bbiettivo ad immersione in acqua. Tale obbiettivo viene usato con immersione in acqua (acqua distillata soluzione fisiologica) applicata fra il campione e l'estremità dell'obbiettivo. Le procedure di microscopia sono le stesse degli obbiettivi ad immersione in olio.

Poiché l'acqua evapora rapidamente, monitorare l'immersione in acqua durante l'osservazione. Evitare di usare troppa acqua poiché l'acqua in eccesso si spanderà sul tavolino e intorno al condensatore favorendo la corrosione.

Rimozione dell'acqua

Dopo l'uso rimuovere l'acqua dall'estremità dell'obbiettivo e dal condensatore, quindi effettuare una pulizia con alcol puro. Se si notano macchie di acqua, applicare una piccola quantità di detergente neutro e pulire delicatamente, quindi passare alcol puro.

ATTENZIONE

- La benzina rettificata e l'alcol puro usati per rimuovere l'acqua da immersione sono altamente infiammabili. Fare attenzione quando si maneggiano questi prodotti, in particolare nei pressi di fiamme libere o quando si accende o si spenge un interruttore generale.
- Quando si usa l'alcol puro seguire le istruzioni fornite dal produttore.

13 Microscopia in campo scuro

Le procedure di microscopia in campo scuro descritte nel capitolo 2 fanno uso di un condensatore universale; la microscopia in campo scuro può essere condotta anche utilizzando un condensatore in campo scuro (a secco o in olio) oppure un C-C Phase Turret Condenser. Quando si usano questi condensatori per la microscopia in campo scuro, notare quanto specificato di seguito.

Uso di un condensatore in campo scuro (a secco o in olio)

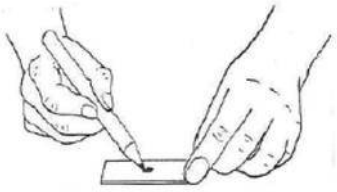
Mettere a fuoco e centrare il condensatore in campo scuro come descritto di seguito:

(1) Preparare un campione temporaneo per eseguire l'aggiustamento. Una sezione patologica uniformemente distribuita è ideale. (Se non è disponibile, tracciare una linea di ampiezza 3mm su un vetro di una slide con una matita a cera o con un marcatore pemanente, per realizzare una superficie uniforme).

(2) Nella fase di preparazione alla microscopia, posizionare il campione temporaneo sul tavolino e metterlo a fuoco con un obbiettivo 10x.

(3) Portare fuori dal percorso ottico il filtro ND. (Commutare in "OUT").

(4) Ruotare la manopola di messa a fuoco del condensatore fino a quando il condensatore stesso non raggiunge la posizione più alta.



Come creare un campione temporaneo

Applicare l'olio da immersione al condensatore.
Quando si usa un condensatore in campo scuro (in olio), applicare l'olio da immersione fra il vetro della slide e la lente del condensatore. (Vedi "12 immersione in olio/immersione in acqua").

(5) Ruotare lentamente la manopola di messa a fuoco del condensatore per abbassare la lebnte del condensatore stesso fino a quando non appare un'ombra scura vicino al centro del campo di vista.

(6) Usando le viti di centramento del condensatore, portare l'ombra scura nel centro del campo di vista.

(7) Sollevare il condensatore e aggiustare per avere un'illuminazione uniforme nel campo di vista.
Ruotare la manopola di messa a fuoco del condensatore nella direzione per sollevare il condensatore fino a quando le disuniformità di illuminazione del campo di vista divengono impercettibili. Fare degli aggiustamenti fini per raggiungere un'alta uniformità.

Applicare l'olio da immersione al condensatore.
Nella maggior parte dei casi, gli aggiustamenti con la manopola di messa a fuoco non sono richiesti nelle procedure di microscopia in campo scuro dopo il precedente punto 7. Tuttavia può essere necessario fare degli aggiustamenti fini quando si incrementano gli ingrandimenti dell'obbiettivo mentre si osserva un campione spesso.

Obbiettivi.
Quando si usa un condensatore in campo scuro (in olio), gli obbiettivi che hanno un'apertura numerica superiore a quella del condensatore devono essere usati insieme ad un obbiettivo "diaframmato".

Uso di un C-C Phase Turret Condenser

Portare nel percorso ottico il modulo campo scuro del Phase Turret Condenser (posizione torretta [DF]). Questo metodo è utile per individuare un target sul campione. Usare un obbiettivo con un ingrandimento di 10x o superiore e un'apertura numerica di 0.7 o inferiore. Per i campioni che usano un vetro slide spesso, sollevare il condensatore fino alla posizione più alta. Se il campione è troppo spesso, l'illuminazione può non raggiungere la sua superficie. In tal caso ripreparare il campione usando un vetro slide più sottile.

14 Microscopia in epi fluorescenza

Nella microscopia in epi fluorescenza in cui si osserva un'immagine fluorescente, sono richiesti elementi ottici come il filtro o un illuminatore brillante come la lampda al mecurio.

Nell'Ni-U sono usati la torretta cubo epi fluorescente (motorizzata, intelligente o manuale) su cui è montato il cub filtro, l'illuminatore a fibra ottica precentrata HG (motorizzato o manuale) che usa una lampada al mercurio come sorgente di luce e l'accessorio per epi fluorescenza equipaggiato col filtro ND, diaframma di apertura e diaramma di campo.

Per controllare la torretta cubo epi fluorescenza motorizzata o l'illumintore a fibra ottica precentrata HG motorizzato, devono essee connessi il braccio di contatto e la control box B allo scopo di realizzare una configurazione di microscopio motorizzato e per eseguire le operazioni devono essere utilizzati una tastiera di controllo remoto o una DS-L3

ATTENZIONE

La sorgente di luce usata nell'accessorio per epi fluorescenza (lampada al mercurio) richiede una cura speciale nel maneggiamento a causa delle sue caratteristiche. Assicurarsi di aver ben compreso e di osservare tutte le avvertenze e precauzioni descritte all'inizio di questo manuale di istruzioni.-

14.1 Funzionamento della torretta cubo epifluorescenza (Switching Excitation Method)

Funzionamento della torretta cubo epifluorescenza manuale/intelligente

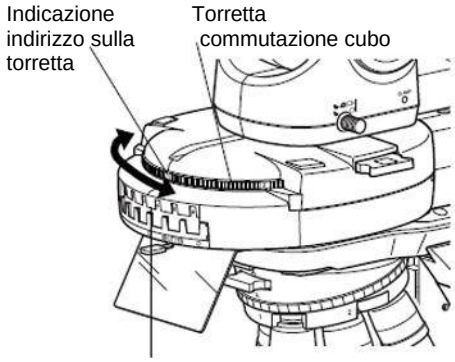
In una torretta cubo per epifluorescenza manuale/intelligente possono essere inseriti fino a sei cubi filtro. Ruotare manualmente la torretta di commutazione cubo e portare nel percorso ottico il cubo filtro appropriato per l'obbiettivo. Il cubo filtro nel percorso ottico è indicato dall'indirizzo sul frontale della torretta.

Quando si opera sulla torretta di commutazione cubo assicurarsi che la torretta stessa sia in una posizione di "click stop" in modo tale che il cubo filtro venga portato correttamente nel percorso ottico.

Sul frontale del coperchio dello slot per la sostituzione del cubo filtro, c'è una finestra per alloggiare la targhetta del nome del cubo filtro. Inserendo una targhetta nell'indirizzo a cui il cubo filtro è stato montato è possibile determinare quale cubo filtro si trova correntemente nel percorso ottico.

Quando si usa una torretta cubo per epifluorescenza intelligente, configurando le informazioni di montaggio del cubo filtro sulla DS-L3, è possibile stabilire il cubo filtro correntemente nel percorso ottico osservando lo schermo della DS-L3.

Per la procedura per montare il cubo filtro sulla torretta, vedere il capitolo 1 "3 Metodo di montaggio – 6 Montaggio della torretta cubo epi fluorescenza e accessorio per epi fluorescenza - ■ Montaggio del cubo filtro" nel "Montaggio/Manutenzione".


Indicazione indirizzo sulla torretta
Torretta commutazione cubo
Finestra targhetta nome del cubo filtro epifluortescenza

Rotazione della torretta

Funzionamento della torretta cubo epifluorescenza motorizzata

Sulla torretta cubo epifluorescenza motoprizzata possono essere montati fino a sei cubi filtro. Ruotare la torretta per portare nel percorso ottico il cubo filtro appropriato per l'obbiettivo del microscopio.

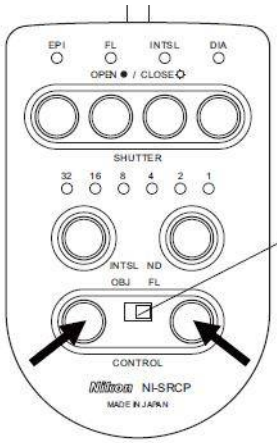
Premere il bottone CONTROL rotation/reverse rotation sul controllo remoto. Prima di fare questo, assicurarsi che lo switch di selezione a cursore OBJ/FL sia posizionato su [FL]. La torretta ruota all'indirizzo adiacente in senso orario/antiorario tutte le volte che viene premuto il bottone CONTROL rotation/reverse rotation.

Configurando le informazioni di montaggio obbiettivo sulla DS-L3, si possono vedere sullo schermo della stessa DS-L3 le informazioni relative al cubo filtro. Inoltre, sul frontale del coperchio dello slot per la sostituzione del cubo filtro, c'è una finestra per la targhetta del nome del cubo filtro. Sarà utile inserire una targhetta col nome all'indirizzo su cui il cubo filtro è stato montato.

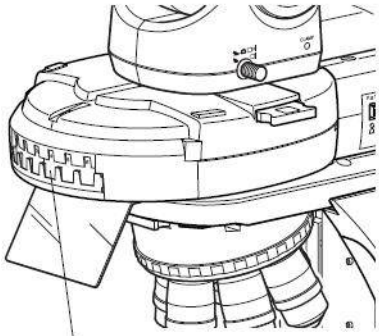
La configurazionwe delle informazioni di montaggio viene eseguita sulla DS-L3 (Vedi "19 Funzionamento della DS-L3" – "19.1 Impostazione del microscopio – (1) Impostazione delle informazioni di installazione degli elementi ottici").

Per la procedura di montaggio del cubo filtro sulla torretta vedere il capitolo 1 "3 Metodo di montaggio – 6 Montaggio della torretta cubo epifluorescenza e accessorio per epifluorescenza - ■ Montaggio del cubo filtro" nel manuale "Montaggio/Manutenzione".

♦ Operazione con la DS-L3 (vedi "19-2 Controllo del microscopio") ♦



Commutazione torretta cubo epifluorescenza



Inserzione targhetta nome nella finestra indirizzo

Uso di torrette cubo epifluorescenza su doppio livello

Due torrette cubo epifluorescenza possono essere usate montandole una sull'altra.

Quando si usa una torretta su due livelli, attaccare un dispositivo che usa un laser come illuminatore al 1° passo per le operazioni come la foto attivazione. Attaccare l'accessorio per epifluorescenza al 2° passo per la microscopia in epifluorescenza. Poiché questa configurazine su due livelli è fornita come un diverso sistema, questo manuale non include la sua descrizione.

Notare che in questa sistemazione su due livelli, non si possono usare torrette cubo epifluorescenza motorizzate (o intelligenti) per i due passi. Quando si combinano una torretta motorizzata (o intelligente) e una torretta manuale, montare la torretta motyorizzata (o intelligente) al 1° passo.

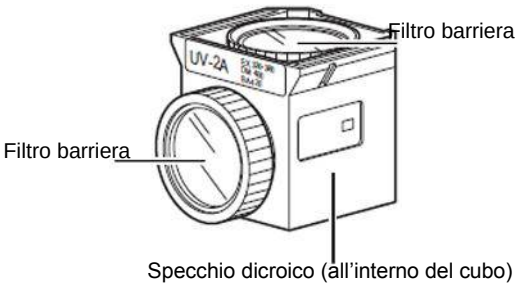
Sebbene la descrizione in questo manuale sia sostanzialmente per la torretta cubo epi fluorescenza nel 1° passo, essa si riferisce anche alla torretta cubo epifluorescenza al 2° passo quando richiesta.

Configurazione della velocità della torretta cubo epifluorescenza.

La torretta cubo epi fluorescenza è configurata al momento della spedizione per operare in "alta velocità" ma può essere configurata anche per funzionamento a "bassa velocità" per l'uso con specchi dicroici spessi (Vedi "19 Funzionamento della DS-L3" – 19.1 Impostazione del microscopio – (7-1) FL TURRET DRIVE SPEED"

14.2 Selezione filtri

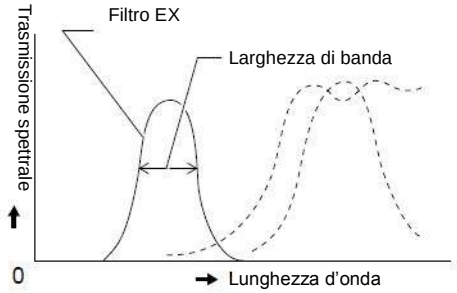
Un cubo filtro consiste in tre tipi di componenti ottici: un filtro di eccitazione (filtro EX), un filtro barriera (filtro BA) e uno specchio dicroico (DM). Selezionare il cubo filtro con la combinazione desiderata di componenti ottici per adattarsi alle caratteristiche del campione e il fluoroforo riferendosi alle proprietà di ciascun filtro quindi montare il cubo filtro sulla torretta cubo epifluorescenza.
Si può selezionare una combinazione di un filtro di eccitazione e un filtro barriera anche se si sta usando lo stesso metodo di eccitazione.
I filtri di eccitazione, i filtri barriera e gli specchi dicroici possono essere acquistati separatamente. Poiché i filtri di eccitazione sono esposti a una forte luce durante le operazioni si deterioreranno nel tempo. Sostituire il filtro a intervalli determinati dall'uso.



Cubo filtro

Filtro di eccitazione (filtro EX)

I filtri di eccitazione permettono una trasmissione selettiva della luce (luce di eccitazione) nel range di lunghezza d'onda richiesta per le emissioni di luce fluorescente dal campione, bloccando la luce dovuta a tutte le altre lunghezze d'onda. La gamma di lunghezze d'onda che può passare attraverso il filtro viene detta larghezza di banda. La larghezza di banda di un filtro di eccitazione determina la luminosità dell'immagine fluorescente, la generazione di autofluorescenza (fluorescenza resultante da sostanze non fluorofore) e il grado di scoloramento. Tanto maggiore è la larghezza di banda tanto più alta è la quantità di luce di eccitazione irradiata sul campione, incrementando in tal modo la luminosità. Comunque questo incrementa anche la quantità di autofluorescenza e causa una maggior rapidità di decolorazione. Una larghezza di banda più stretta riduce la quantità di luce di eccitazione che colpisce il campione e produce un'immagine che appare più scura ma riduce l'autofluorescenza e la decolorazione. Per i campioni con autofluorescenza pronunciata usare filtri di eccitazione con una banda stretta. (Notare che questo produrrà un'immagine fluorescente più scura).
Poiché i filtri di eccitazione sono esposti a una forte luce durante le operazioni, si deterioreranno nel tempo. Sostituire il filtro a intervalli determinati dall'uso.



Larghezza di banda del filtro EX

Larghezza di banda del filtro EX e immagine fluorescente

	Stretta	Laghezza di banda filtro BX	Larga
Luminosità dell'immagine fluorescente	Scura		Chiara
Generazione di autofluorescenza	Bassa		Alta
Grado di decolorazione	Basso		Alto

Filtro barriera (filtro BA)

I filtri barriera permettono il passaggio solo alla luce fluorescente emessa dal campione, bloccando la luce di eccitazione. Questo consente la visione dell'immagine fluorescente senza eccesso di illuminazione (sfondo scuro).

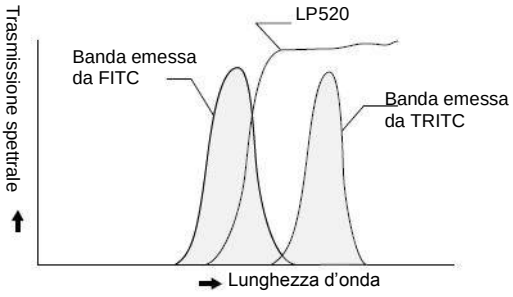
Ci sono due tipi di filtri barriera: i filtri LP che bloccano tutta la luce al di sotto di una certa lunghezza d'onda ma lasciano passare tutta la luce di lunghezze d'onda superiori e i filtri BP che lasciano passare la luce di una certa banda di lunghezze d'onda bloccando la luce dovuta a tutte le altre. Usare il tipo di filtro appropriato al vostro scopo.

Filtro LP (filtro passa alto)

I filtri LP bloccano tutta la luce al di sotto di una certa lunghezza d'onda ma lasciano passare tutta la luce dovuta a lunghezze d'onda superiori. La lunghezza d'onda di confine è detta lunghezza d'onda di "cut-on".

(1) Per campioni etichettati con un fluoroforo in cui la banda fluorescente e la banda di eccitazione (luce che il campione assorbe per emettere luce fluorescente) sono molto vicine, selezionando un filtro barriera con le più corte lunghezze d'onda di "cut-on" consentite dalle prestazioni richieste si avrà la più efficiente microscopia in fluorescenza. Se la lunghezza d'onda di "cut on" è elevata, la luce di eccitazione e la luce fluorescente saranno interamente distinte, con una tendenza ad uno sfondo dell'immagione fluorescente più scuro. Comunque, i recenti sviluppi nelle prestaziioni dei filtri consentono un incremento nell'usio dei filtri con corte lunghezze d'onda di "cut on".

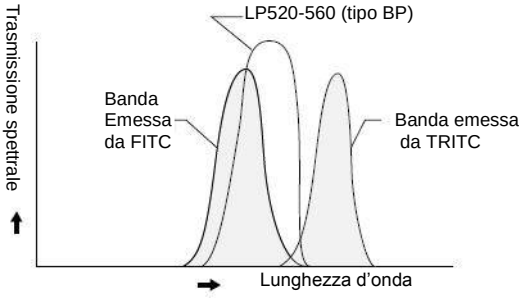
(2) Per i campioni multi-etichettati, usare un filtro LP per la mcroscopia di immagini fluorescenti di tutti i fluorofori. Notare che una combinazione che implica un ordinario specchio dicroico, un filtro di eccitazione e un filtro barriera tipo LP non sarà adeguato per fluorosfori eccitati che emettono luce fluorescente di alte lunghezze d'onda – per esempio, TRITC nel caso di FITC e TRITC. Si produrranno immagini fluorescenti TRITC molto scure. In tali casi si raccomanda l'uso di filtri multibanda.



Filtro passa alto
(Sono visibili le due immagini FITC e TRITC)

Filtro BP (filtro passa banda)

I filtri passa banda lasciano passare solo luce di lunghezza d'onda che rientra in una certa gamma, bloccando tutta l'altra luce. I filtri BP sono usati per la microscopia di immagini fluorescenti che implicano un fluoroforo specifico in campioni multi etiochettati. (Per esempio, in un campione etichettato doppio di FITC e TRITC, il filtro BA520-560 permette solo la microscopia dell'immagine fluorescente FITC). Comunque, i filtri BP non separeranno l'autofluorescenza se esiste (poiché l'immagine fluorescente nella combinazione di cui sopra è solo verde). I filtri LP sono più adatti per eseguire una separazione fine di autofluorescenza basata su leggere differenze di colore.



Filtro passa banda
(E' visibile solo l'immagine fluorescente FITC)

14.3 Protezione del campione e prevenzione della decolorazione (Usando l'otturatore)

Se il campione è esposto continuamente all'intensa luce della lampada a mercurio usata per l'accessorio per epi fluorescenza, può danneggiasi o decolorarsi. Assicurarsi di chiudere l'otturatore quando si sospende la microscopia o quando si esegue una pausa nella microscopia in epi fluorescnza per eseguire una microscopia con luce diascopica. Fare in modo che questa divenga una buiona abitudine di lavoro.

Gli otturatori per bloccare l'illuminazione in epifluorescenza sono installati nei seguenti prodotti. Ognuno di questi otturatori può essere usato per aprire/chiudere il percorso ottico.

- Torretta cubo epi fluorescenza manuale/intelligente/motorizzato
- Illuminatore a fibra precentrata HG (Intensilight) manuale/motorizzato
- Otturatore EPI motorizzato

Per aprire/chiudere l'otturatore sul prodotto motorizzato, il braccio di contattop e la control box B devono essere connessi per realizzare una configurazione di microscopio motorizzato e per l'aziiobnamento deve essere usato un controllo remoto o una Ds-L3.

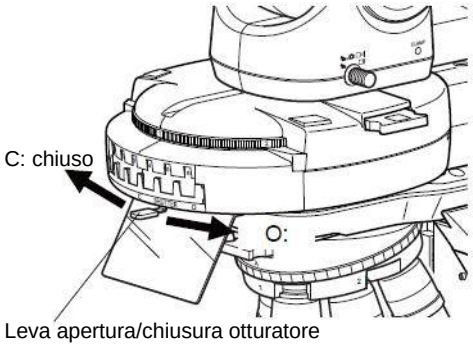
Azionamento dell'otturatore manuale

Per azionare l'otturatore nella torretta cubo epifluorescenza manuale/intelligente usare la leva di apertura/chiusura otturatore nella parte bassa del frontale della torretta.

Posizione leva [C]: otturatore chiuso.

Posizione leva [O]: otturatore aperto.

Per i dettagli sull'azionamento dell'otturatore nell'illuminatore a fibra precentrata HG riferirsi al manuale di istruzione dell'illuminatore.



Apertura/chiusura otturatore

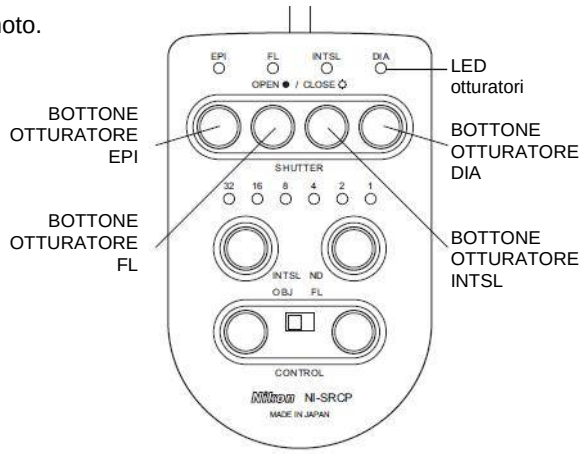
Azionamento dell'otturatore motorizzato

■ Torretta cubo epifluorescenza motorizzata

Per azionare l'otturatore nella torretta cubo epifluorescenza motorizzata, premere il bottone FL SHUTTER sulla tastiera del controllo remoto. Quando l'otturatore è chiuso si accenderà il LED FL SHUTTER.

■ Otturatore motorizzato

Nell' Ni-U, l'otturatore motorizzato può essere montato dalla parte dell'epi fluorescenza o dalla parte della trasmissione per aprire/chiudere il percorso della illuminazione in epi fluorescenza o il percorso della dia illuminazione. Per la parte in epi fluorescenza l'otturatore è montato fra l'accessorio per epi fluorescenza e l'adattatore HG sull'illuminatore a fibra ottica precentrata, Per la parte trasmissione l'otturatore è montato fra la montatura del portalampada sul retro della base del microscopio e il portalampada della dia illuminazione.



Se si hanno due otturatori motorizzati essi possono essere montati sia dalla parte epi fluorescenza sia dalla parte trasmissione. Ciò è utile quando si commuta fra i metodi di epi fluorescenza e contrasto di interferenza differenziale o fra i metodi di epi fluorescenza e contrasto di fase, (Gli adattatori di montaggio per le parti EPI e DIA sono diversi). Per azionare l'EPI otturatore motorizzatop (parte di epi fluorescenza), premere il bottone EPI SHUTTER sulla tastiera del controllo remoto

Quando l'otturatore è chiuso EPI SHUTTER LED si accende.
Per azionare il DIA otturatore motorizzato (parte trasmissione), premere il bottone DIA SHUTTERsulla tastiera del controllo remoto. Quando l'otturatore è chiuso DIA SHUTTER LED si accende.

■ Illuminatore HG a fibra precentrata

Per azionare l'otturatore nell'illuminatore motorizzato HG a fibra precentrata, premere il bottone INTSL SHUTTER sulla tastiera del controllo remoto. Quando l'otturatore è chiuso INTSL SHUTTER LED si accende.

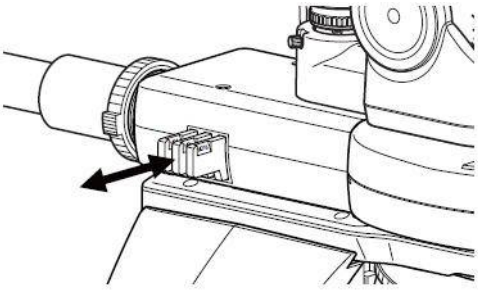
♦ Operazione con DS-L3 (vedi "19.2 Controllo del microscopio") ♦

Azionamento raggruppato degli otturatori parte EPI

I tre tipi di otturatori parte EPI (l'otturatore nella torretta cubo epi fluorescenza, l'EPI otturatore motorizzato e l'otturatore nell'illuminatore HG a fibra precentrata) possono essere aperti e chiusi in gruppo. L'azionamento viene fatto tramite la DS-L3. (Vedi capitolo 3, "19 Funzionamento con DS-L3 – 19.2 Controllo del microscopio")

14.4 Regolazione della luminosità dell'immagine fluorescente (Usando i filtri ND e l'apertura)

La luminosità dell'immagine epi fluorescente può essere regolata usando i filtri ND nell'accessorio per epi fluorescvenza e nell'illuminatore HG a fibra precentrata.
I filtri ND sono usati per aggiustare l'intensità della luce. Più alto è il numero del filro minore è la trasmittanza e più scura è l'immagine prodotta quando il filtro è inserito nel percorso ottico. I filtri ND non influiscono sul bilanciamento del colore. La luminosità dell'immagine può essere regolata anche usando il diaframma di apertura sull'accessorio per epi fluorescenza.



Installazione/rimozione dei filtri ND

Riduzione della luce combinando i filtri ND dell'ascessorio per epi fluorescenza

Luminosità	ND4	ND8	ND16
1	-	-	-
1/4	o	-	-
1/8	-	o	-
1/16	-	-	o
1/32	o	o	-
1/64	o	-	o
1/128	-	o	o
1/512	o	o	o

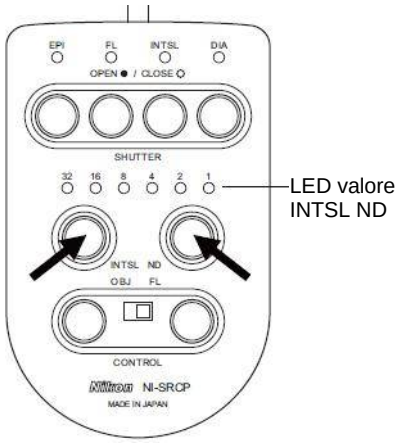
(-: rimosso dal pecorso ottico, O : inserito nel percorso ottico)

Filtri ND nell'illuminatore HG motorizzato a fibra precentrata

Premendo il bottone INTSL ND UP/DOWN sulla tastiera del controllo remoto, può essere controllato il valore ND dei filtri ND nell'illuminatore HG motorizzato a fibra precentrata al fine di regolare la luminosità in modo incrementale.

Premendo il bottone INTSL ND UP si incrementa la percentuale di trasmissione che comporta un aumento della luminosità. Premendo il bottone INTSL ND DOWN si decrementa la percentuale di trasmissione provocando una diminuzione di luminosità.

La luminosità po' essere regolata in sei passi con la relativa intensità di luce che cicla nel seguente ordine tutte le volte che si preme lo switch: 1 ⟷ 1/2 ⟷ 1/4 ⟷ 1/8 ⟷ 1/16 ⟷ 1/32 ⟷ 1 ⟷ .



Aggiustamento del valore filtro ND

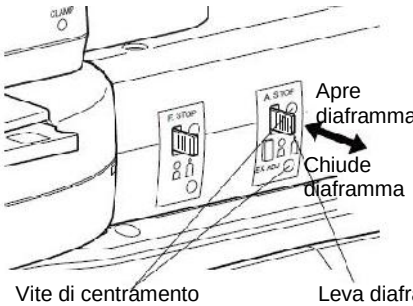
♦ Operazione con DS-L3 (vedi "19.2 Controllo del microscopio" ♦

Per i dettagli sulla regolazione del valore ND dell'illuminatore HG manuale a fibra precentrata, riferirsi al manuale di istruzione dell'illuminatore.

Apertura

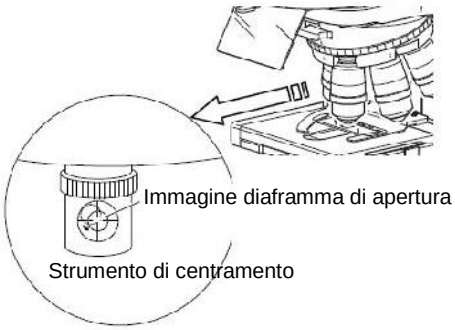
Il diaframma di apertura è usato per regolare l'apertura numerica del sistema di illuminazione. Nella microscopia in epi fluorescenza esso può essere usato anche per regolare la luminosità dell'immagine così come la quantità di luce parassita.

Agendo sulla leva del diaframa di apertura dell'accessorio per epi fluorescenza si varia la dimensione del diaframma. Premendo la leva si apre il diaframma di apertura ed tirandola si chiude. Chiudendo il diaframma si riduce la luce parassita ma si renderà anche più scura l'immagine. Inversamente, aprendo di più il diaframma si aumenta la luminosità ma si tende ad aumentare anche la quantità di luce indesiderata. Per una microscopia in epi fluorescenza di tipo standard, tenere aperto il diaframma e chiuderlo quanto necessario per regolare la luminosità dell'immagine. Prima dell'uso assicurarsi di aver centrato il diaframma di apertura dell'accessorio per epi fluorescenza nel modo che segue:



■ Centramento del diaframma di apertura

(1) Chiudere l'otturatore della torretta cubo epi fluorescenza.
(2) Sostituire un obbiettivo del portaobbiettivi con lo strumento di centramento.
(3) In microscopia in epi fluorescenza, mettere a fuoco il campione.
(4) Portare lo strumento di centramento nel percorso ottico.
(5) Estrarre la leva del diaframma di apertura per chiudere il diaframma.
(6) Mentre si guarda lo schermo sullo strumento di centramento, ruotare la vite di centramento del diaframma di apertura con un cacciavite esagonale (di 2mm) per spostare l'immagine del diaframma di apertura nel centro dello schermo. Assicurarsi di osservare lo schermo ponendosi in fronte ad esso.



Aggiustamento e centramento del diaframma di apertura

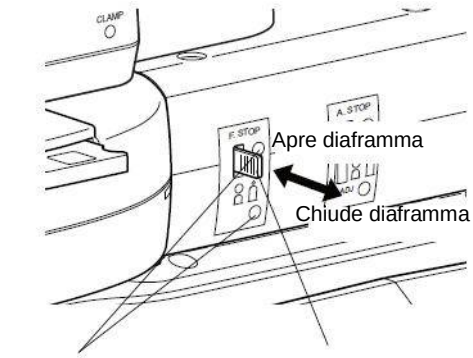
14.5 Restringimento dell’illuminazione all’area del campione che deve essere osservata (Centramento e aggiustamento del diaframma di campo)

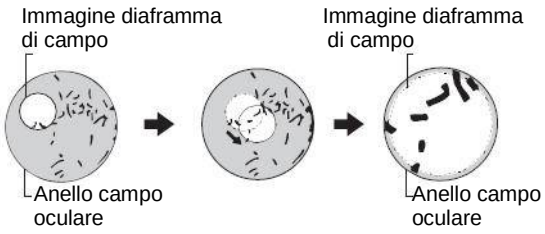
Il diaframma di campo è usato per restringere l’illuminazione all’area del campione che deve essere osservata.

Agendo sulla leva del diaframma di campo si cambia la dimensione del diaframma stesso. Premendo la leva si apre il diaframma e tirandola verso l’esterno si chiude.

Per le normali osservazioni regolare il diaframma in modo tale che i bordi dell’apertura crcoscrivano o inscrivano il campo di vista. Aprendo troppo il diaframma di campo e illuminando un’area più estesa del necessario si faciliterà l’ingresso nel campo di vista di luce parassita, che può generare bagliori riducendo il contrasto dell’immagine. Inoltre, il campione si scolorerà su un’area più estesa.

Prima dell’uso, assicurarsi di aver centrato il diaframma di campo dell’accessorio per epi fluorescenza seguendo le istruzioni seguenti:





Aggiustamento del diaframma di campo

■ **Centramento del diaframma di apertura**

(1) Estrarre la leva del diaframma di campo sull’accessorio per epi fluorescenza per chiudere il diaframma.

(2) Ruotare la vite di centramento del diaframma di campo con un cacciavite esagonale (da 2mm) per portare l’immagine del diaframma nel centro del campo di vista.

(3) Premere verso l’interno la leva del diaframma di campo per aprire il diaframma stesso fino a raggiungere la dimensione del campo di vista.

(4) Agire di nuovo sulla vite di centramento del diaframma di campo per allineare il centro dell’immagine del diaframma col centro del campo di vista.

Quando aggiustare il diaframma di campo

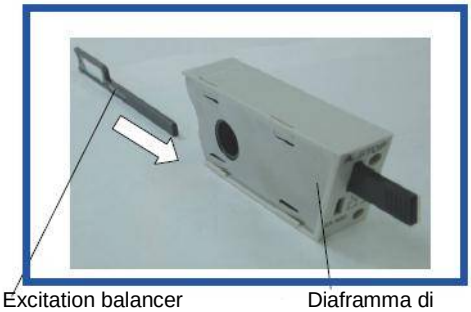
Assicurarsi di aggiustare la dimensione del diaframma di campo tutte le volte che si cambia l’obbiettivo. Non è essenziale centrare il diaframma di campo tutte le volte che si cambia l’obbiettivo, ma è buona norma eseguire un rapido controllo e fare gli aggiustamenti quando necessario.

14.6 Cambio delle caratteristiche della forma d’onda della luce di eccitazione (D-FB Excitation Balancer)

Installando l’Excitation Balancer D-FB sull’accessorio per epi fluorescenza, si possono cambiare arbitrariamente le caratteristiche della forma d’onda della luce di eccitazione. Il balancer deve essere usato con un cubo filtro “dual-band”.

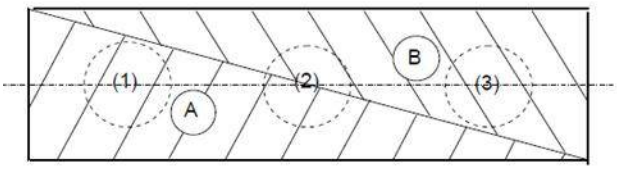
■ Montaggio e uso dell’ excitation balancer

(1) Spengere la sorgente di luce epi fluorescenza.
(2) Rimuovere l’unità diaframma di apertura dall’accessorio per epi fluorescenza.
(3) Inserire l’Excitation Balancer D-FB sul retro dell’unità diaframma di apertura come mostrato nella figura. Fare attenzione a non toccare la superficie di vetro del balancer.
(4) Reinserire l’unità diaframma di apertura nell’accessorio per epi fluorescenza.
(5) Montare un cubo filtro dual-band nell’accessorio per epi-fluorescenza.
(6) Aggiustare l’excitation balancer orizzontalmente per ottenere la luce di eccitazione desiderata.
(7)

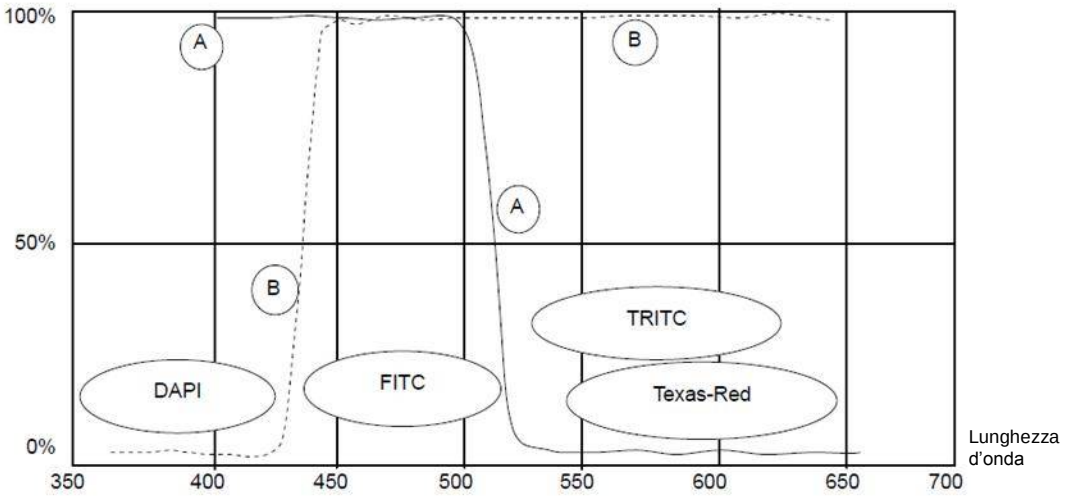


Installazione dell’excitation balancer

■ Dettagli sull’excitation balancer



Diametro effettivo sulla superficie del diaframma di apertura



L’excitation balancer è configurato per raggiungere quasi sempre il 100% di trasmittanza per FITC che, generalmente, ha bassa fluorescenza.

Posizione del percorso ottico	DAPI	FITC	TRITC/Texas-Red
(1)	100%	100%	0%
Fra (1) e (2)	Variabile (da 100 a 50%)	100%	Variabile (da 0 a 50%)
(2)	50%	100%	50%
Fra (2) e (3)	Variabile (da 50 a 0%)	100%	Variabile (da 50 a 100%)
(3)	0%	100%	100%

■ **Obbiettivi**

L’excitation balancer dovrebbe essere usato con i seguenti obbiettivi. L’uso di altri obbiettivi può produrre disuniformità nel campo di vista.

Plan fluor	40x/0.75	40xH/1.3	100xH/.3
S fluor	40x/0.9	40xH/1.3	100xH/.3
Plan apochromat	40x/0.95	60xH/1.4	100xH1.4

14.7 Altre considerazioni sulla microscopia in epi fluorescenza

■ **Uso di slide, vetro di copertura e olio da immersione non fluorescenti**

Per le osservazioni in fluorescenza, al fine di ottenere un’immagine con miglior contrasto, assicurarsi di usare slide e vetro di copertura non fluorescenti e l’olio da immersione da noi specificato.

■ **Individuazione di un target sul campione**

La procedura standard per la microscopia in epi fluorescenza è quella di individuare il target prima con procedure di microscopia a contrasto di interferenza differenziale o a contrasto di fase e quindi passare alla microscopia in epi fluorescenza. Per individuare il target in microscopia in campo chiaro con dia illuminazione, occorre notare quanto segue:

- In microscopia in campo chiaro con dia illuminazione, iniziare con un obbiettivo 10x e chiudendo adeguatamente il condensatore.
- Incrementare gradualmente l’ingrandimento. Se il target è di difficile individuazione, passare alla epi fluorescenza e usare una bassa luce di eccitazione.
- E’ possibile usare anche altre tecniche come l’utilizzo del bordo del vetro di copertura per approssimare la posizione del target.

■ **Proteggersi dalla luce ultravioletta (schermo para luce)**

Lo schermo para luce è usato per evitare che la luce ultravioletta riflessa entri negli occhi dell’osservatore; essa è emessa originariamente dal campione attraverso l’obbiettivo.

15 Microscopia a contrasto di interferenza differenziale

Nella microscopia a contrasto di interferenza differenziale in cui si osservino campioni chiari o senza colore co alto contrasto, sono richiesti l'analizzatore, il polarizzatore e lo slider/modulo DIC (sull'obbiettivo/condensatore).
Poiché l'analizzatore e lo slider DIC sull'obbiettivo sono usati montandoli sullo slot del portaobbiettivi, nella microscopia a contrasto di interferenza differenziale viene usato un portaobbiettivi con slot. Per quanto riguarda il condensatore viene usato un condensatore universale a secco che accetti il modulo DIC oppure il condensatore in olio tipo DIC.

15.1 Suggerimenti per la microscopia a contrasto di interferenza differenziale

Importanti aggiustamenti ottici

Nella microscopia a contrasto di interfgerenza differenziale, sono molto importanti i due aggiustamenti ottici seguenti. Un aggiustamento non corretto produrrà immagini non chiare. Operare con la dovuta cautela.

■ **Messa a fuoco e centramento del condensatore**

Vedi capitolo 2, "4 Microscopia a contrasto di interferenza differenziale – **13** Messa a fuoco e centramento del condensatore"

■ **Aggiustamento dell'orientamento del polarizzatore e dell'analizzatore**

Vedi capitolo 2, "4 Microscopia a contrasto di interferenza differenziale – **14** Aggiustamento dell'orientamento (direzione di vibrazione) del polarizzatore e dell'analizzatore"

Combinazione dello slider DIC sull'obbiettivo e del modulo DIC sul condensatore

Nella microscopia a contrasto di interfgerenza differenziale vengono montati sull'obbiettivo e sul condensatore uno slider DIC e un modulo DIC. La combinazione dello slider DIC sull'obbiettvo e del modulo DIC sul condensatore varia in funzione dell'obbiettivo che si sta usando. Notare che una combinazione non appropriata può impedire la produzione dell'immagine di interferenza o un significativo degrado del contrasto.
Alcuni moduli DIC sono progettati per fornire un maggior contrasto o una maggiore risoluzione per particlari scopi di microscopia. Da notare tuttavia che, in linea di principio, il contrasto e la risoluzione sono in competizione nella microscopia a contrasto di interferenza differenziale (aumentando il contrasto si degraderà la risoluzione e viceversa), quindi selezionare la combinazione tenendo presente questo fatto. Per la "Combinazione dello slider DIC sull'obbiettivo e del modulo DIC sul condensatore" vedi capitolo 1 "3 Montaggio – 13 Montaggio del condensatore - ■ Montaggio del modulo ottico sul condensatore universale, ■ Montaggio del modulo ottico sul condensatore DIC" in "Montaggio/Manutenzione".

Vetro della slide, vetro di copertura

Nella microscopia a contrasto di interfgerenza differenziale è importante usare slide e vetri di copertura puliti ed esenti da distorsione.

15.2 Uso degli elementi ottici

■ **Modulo DIC sul condensatore**

Riferirsi a “7.1 Operazioni sul condensatore universale”

■ **Slider DIC sull’obbiettivo**

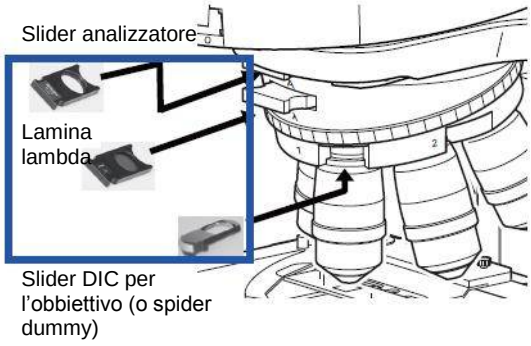
Inserire lo slider DIC nello slot sulla locazione dell’obbiettivo sul portaobbiettivi.

Inserire completamente fino a fine corsa.

■ **Slider analizzatore**

Inserire lo slider nello slot dell’analizzatore sul portaobbiettivi. Lo slider ha due posizioni dli “click stop”.

Inserire completamente fino a fine corsa.



Inserzione/rimozione dello slider DIC, dell’analizzatore e della lamina lambda

■ **Lamina lambda**

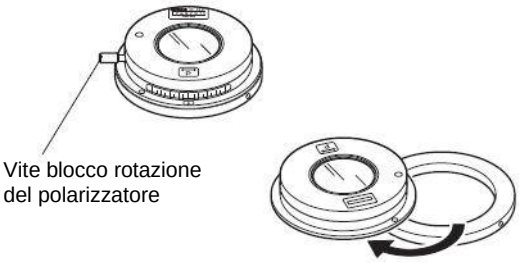
La lamina lambda viene inserita in uno slot sul portaobbiettivi quando si esegue una microscopia che utilizza il contrasto di colore.

Lo slider ha due posizioni dli “click stop”. Al primo “click” dopo l’inserzione nello slot la lamina lambda non è nel percorso ottico. Per portarla nel percorso ottico occorre premere lo slider fino alla posizione del secondo “click stop”. Questo cambierà lo sfondo in un colore sensibile, consentendo l’osservazione con alto contrasto di colore. Il colopre di interferenza viene visualizzato basandosi su cambiamenti dell’indice di rifrazione e/o dello spessore del campione.

■ **Polarizzatore**

Il polarizzatore girevole viene posizionato sopra la lente di campo. Allentare la vite di blocco del polarizzatore girevole, ruotare il polarizzatore per allineare le linee dell’indicatore e quindi assicurarlo nella posizione. Allentando la vite di blocco rotazione e ruotando il polarizzatore si cambia il colore di sfondo.

Per togliere il polarizzatore dal percorso ottico ruotare in fuori la parte superiore.



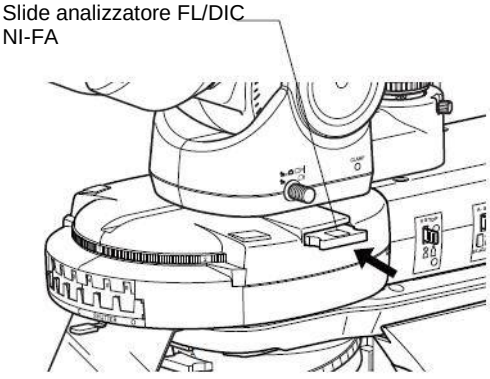
Operazioni sul polarizzatore

■ **Slider analizzatore FL/DIC**

Lo slider analizzatore FL/DIC è un elemento ottico richiesto quando si commuta fra i metodi epi fluorescenza e contrasto di interferenza differenziale o si utilizzano contemporaneamente. Inserire lo slider nello slot in alto sul lato destro della torretta cubo epi fluorescenza.

Lo slider ha due posizioni dli “click stop”. Al primo “click” dopo l’inserzione nello slot l’analizzatore non è nel percorso ottico. Per portarlo nel percorso ottico occorre premere lo slider fino alla posizione del secondo “click stop”. Inserire completamente fino a fine corsa.

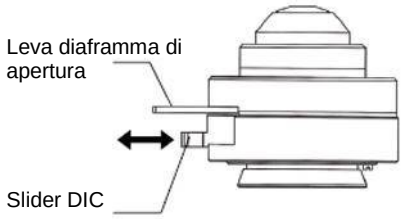
Quando si usa lo slider analizzatore FL/DIC, non è richiesto lo slider montato sul portaobbiettivi.



Inserzione/rimozione dello slider analizzatore FL/DIC

15.3 Uso del condensatore DIC D-CUO

Questo condensatore fornisce i migliori risultati nella microscopia a contrasto di interferenza differenziale con obbiettivi ad immersione in olio.



Condensatore DIC (in olio)

■ Immersione in olio

Quando si usa un condensatore a immersione in olio, applicare sempre l'olio da immersione fra il vetro della slide e l'estremità della lente del condensatore. I condensatori ad immersione in olio sono corretti dalle aberrazioni assumendo che saranno immersi in olio. Per questa ragione l'olio va applicato fra il vetro della slide e il condensatore senza considerare se l'obbiettivo è del tipo ad immersione in olio oppure no. Per le informazioni sull'olio da immersione vedere "12 immersione in olio/immersione in acqua".

■ Slider DIC

Quando si usa un condensatore ad immersione in olio, montare sullo slider un modulo DIC dedicato e inserire lo slider nel condensatore.

Per inserire il modulo DIC nel percorso ottico, premere fino a fine corsa lo slider nel condensatore. Quando si passa alla microscopia in campo chiaro, estrarre lo slider dal condensatore.

Ci sono due tipi di moduli DIC per condensatori ad immersione in olio: [D-C DIC N2 OIL] e [D-C DIC NR OIL]. Selezionare il prisma più adatto all'obbiettivo in uso.

Per i dettagli sulla inserzione e la selezione del modulo DIC riferirsi al capitolo 1, "3 Montaggio – 13 Installazione del condensatore - ■ Montaggio del modulo ottico sul condensatore DIC" in "Montaggio/Manutenzione".

■ Messa a fuoco e centramento

Prima dell'uso mettere a fuoco e centrare il condensatore ad immersione in olio. La procedura è identica a quella adottata per gli altri condensatori. Per i dettagli riferirsi al paragrafo 5 "Messa a fuoco e centramento del condensatore". Comunque notare i seguenti punti:

- Assicurarsi di applicare l'olio da immersione prima di mettere a fuoco.
- Se si sta usando un modulo DIC, rimuoverlo dal pecorso ottico estraendo lo slider.

■ Aggiustamento del diaframma di apertura

Normalmente il diaframma di apertura dovrebbe essere aggiustato dal 70 all'80% dell'apertura numerica dell'obbiettivo. Per la regolazione usare l'apposita leva sul frontale del condensatore. La procedura è identica a quella adottata per gli altri condensatori. Per i dettagli riferirsi al paragrafo 5 "Messa a fuoco e centramento del condensatore".

Microscopia a basso ingrandimento

Il condensatore DIC D-CUO non supporta gli obbiettivi con basso ingrandimento (4x o inferiore).

16 Microscopia a contrasto di fase

La microscopia a contrasto di fase è adatta per l'osservazione di campioni chiari e senza colore, campioni non colorati o leggermente colorati, campioni decolorati e fette ultrasottili per microscopi elettronici. Il metodo a contrasto di fase non è adatto per campioni graded o fortemente colorati. Gli elementi ottici richiesti sono l'obbiettivo Ph (phase ring) e il modulo PH sul condensatore. Nell' Ni-U viene usato il condensatore a contrasto di fase C-C contenente un modulo PH oppure il condensatore universale che può alloggiare un modulo PH.

16.1 Suggerimenti per la microscopia a contrasto di fase

Un'immagine a contrasto di fase appare in modo diverso a seconda del contrasto di fase o della forma del campione e delle proprietà dell'obbiettivo. Quando si prepara un campione o si seleziona un obbiettivo Ph notare quanto segue.

Selezionare il campione che non disdallinea il centro del modulo PH

Il centro del modulo PH sarà disallineato quando si osserva un campione che provoca luce diffusa o genera un effetto lente o prisma. In particolare, con campioni vivi e spessi, campioni sovradimensionati e campioni che usano una microlamina il centro sarà disallineato a causa dell'effetto lente o prisma, rendendo il campione difficile da osservare.

Obbiettivo Ph e campione

Gli obbiettivi Ph comprendono obbiettivi "acromatici", "plan acromatici", "plan flour" e "plan apocromatici" a seconda di quanto sono compensate l'aberrazione cromatica e la curvatura di campo. Questi obbiettivi sono ulteriormente suddivisi in diversi tipi in funzione delle proprietà della lamina di fase interna. Per avere una buona microscopia, la quantità di contrasto di fase del campione deve corrispondere alle proprietà della lamina di fase. Vedere la tabella seguente per le proprietà d'uso degli obbiettivi Ph.

Quando si usa un obbiettivo Ph a contrasto scuro, assicurarsi che il contrasto di fase del campione non superi la quantità di contrasto di fase permessa (latitudine). Se la quantità di contrasto di fase del campione è superiore alla quantità consentita l'osservazione non è possibile poiché l'immagine sarà illuminata in modo più brillante dello sfondo.

Quando si prepara un campione per il contrasto di fase è possibile incrementare o decrementare il contrasto di fase attraverso lo spessore del campione e l'indice di rifrazione dell'agente di supporto o della soluzione di coltura.

Un campione con debole contrasto sotto un obbiettivo DLL può rendere meglio con un obbiettivo DM.

Utilizzo delle proprietà degli obbiettivi Ph

Obbiettivo contrasto Ph		Aspetto	Contrasto		Latitudine	Esempi di uso
Contrasto scuro	DLL DL	Generalmente un oggetto con maggior contrasto di fase appare più scuro. Quindi l'immagine è mostrata in nero in un campo di vista relativamente più chiaro, simile a quello osservato nella microscopia in campo chiaro.	Adatto per osservazione di dettaglio principalmente usando micro contrasto.	Intermedio (con uso più ampio)	Oggetti con contrasto di fase e assorbenti (cromosomi) in latitudine bassa e intermedia.	Spore di batteri, batteri vivi, campioni leggermente spessi, batteri, campioni colorati, uova, particelle di grasso, cristallino, etc
	DM			Alto (con uso relativamente ristretto)	Oggetti trasparenti in bassa latitudine.	Batteri e flagello protozoaria, fibra a base di fibrina, granuli sotili, fetta mounting-agent-selective, fetta ultrasottile, etc.
Contrasto chiaro	BM	Generalmente un oggetto con maggior contrasto di fase appare più chiaro. Quindi l'immagine è mostrata più chiara in un campo di vista relativamente più scuro, simile a quello osservato nella microscopia in campo scuro.	Adatto per morfologia, investigazione e calcolo di fibra sottile e granuli principalmente usando macro contrasto.		Quasi tutte le aree	Batteri e flagello protozoaria, fibra a base di fibrina, granuli sottili, calcolo di cellule del sangue, etc.

C'è un obbiettivo Ph usato nella osservazione APC (Apodized Phase Contrast) in cui l'alone è decrementato e il contrasto di strutture minute è incrementato se confrontato con l'osservazione in contrasto di fase menzionata sopra. Vedere la tabella seguente per l'uso delle proprietà degli obbiettivi Ph per l'osservazione APC.

Utilizzo delle proprietà degli obbiettivi Ph per l'osservazione APC

Obbiettivo contrasto Ph		Aspetto	Contrasto		Latitudine	Esempi di uso
Contrasto scuro	ADL	Generalmente un oggetto con maggior contrasto di fase appare più scuro. Quindi l'immagine è mostrata in nero in un campo di vista relativamente più chiaro, simile a quello osservato nella microscopia in campo chiaro.	Adatto per osservazione di dettaglio principalmente usando micro contrasto.	Intermedio (con uso più ampio)	Oggetti con contrasto di fase e assorbenti (cromosomi) in latitudine bassa e intermedia.	Spore di batteri, batteri vivi, campioni leggermente spessi, batteri, campioni colorati, uova, particelle di grasso, cristallino, etc
	ADH			Alto (con uso relativamente ristretto)	Oggetti trasparenti in bassa latitudine.	Batteri e flagello protozoaria, fibra a base di fibrina, granuli sotili, fetta mounting-agent-selective, fetta ultrasottile, etc.

Obbiettivi Ph Plan fluor

Gli obbiettivi Ph Plan fluor possono essere usati anche per le microscopie in campo chiaro, a contrasto di interferenza differenziale e epi fluorescenza. Gli obbiettivi Ph Plan apocromatici possono anche essere usati per le microscopie in campo chiaro, a contrasto di interferenza differenziale e epi fluorescenza (escluso UV-excited). Poiché ambedue i tipi di obbiettivo sono equipaggiati con una lamina di fase interna, possono presentare immagini che differiscono un po' rispetto a quelle presentate dagli obbiettivi specifici per quei metodi. Per le osservazioni rigorose usare gli obbiettivi specifici.

16.2 Uso degli elementi ottici

■ Modulo PH (diaframma anulare Ph)

Usare un modulo con lo stesso codice Ph del'anello di fase dell'obbiettivo.

Sull'obbiettivo Ph è indicato uno dei codici Ph [Ph1], [Ph2] o [Ph3] in funzione della dimensione della lamina di fase. (I codici Ph non hanno nulla a che vedere con l'ingrandimento dell'obbiettivo). Usare sempre un obbiettivo Ph e un modulo PH con lo stesso codice Ph. Se viene usata una differente combinazione di codici non può essere osservato l'effetto fase.

■ Centramento del modulo PH (diaframma anulare Ph) e dell'anello di fase

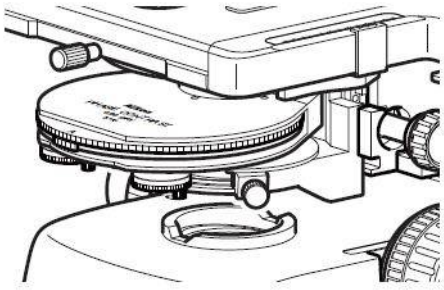
Nella microscopia a contrasto di fase, l'effetto contrasto di fase si ottiene mediante un corretto allineamento del modulo PH del condensatore a torretta (diaframma anulare Ph) con la lamina di fase dell'obbiettivo Ph. Aggiustare correttamente il modulo PH seguendo quanto specificato nel capitolo 2, "5 Microscopia a contrasto di fase -**14** Centrare il modulo PH.

16.3 Uso del C-C Phase Turret Condenser

E' un condensatore equipaggiato col modulo PH, modulo campo scuro e otturatore.

■ Modulo PH

Ruotare la torretta per portare nel percorso ottico il suo modulo PH interno. Portando l'etichetta del modulo PH [Ph1], [Ph2], o [Ph3] in posizione frontale si posizionerà nel percorso ottico il modulo PH corrispondente. Selezionare il modulo



Phase turret condenser

Nel C-C phase turret condenser la posizione di ogni modulo PH nella torretta è pre-aggiustato basandosi sul modulo Ph1. Normalmente una volta centrato col Ph1, ulteriori centramenti non sono richiesti quando si commuta su un altro ingrandimento. Comunque, l'immagine in contrasto di fase differirà leggermente a seconda di come il modulo PH si sovrappone alla lamina di fase, quindi, per una osservazione rigorosa o quando si debba catturare un'immagine, controllare se il modulo PH e la lamina di fase sono concentrici ad ogni ingrandimento. Inoltre, un leggero decentramento del modulo PH e della lamina di fase produrrà un effetto di ombreggiatura producendo un'immagine stereo. Usare questo metodo quando è appropriato per il campione.

Codice Ph

Codice di identificazione della lamina di fase di un obbiettivo Ph o del modulo PH del condensatore.
Sull'obbiettivo Ph è indcato uno dei codici Ph [Ph1], [Ph2], o [Ph3] a seconda della dimensione della lamina di fase. (I codici Ph non hanno niente a che vedere con l'ingrandimento dell'obbiettivo). Analogamente, i moduli Ph del condensatore a torretta sono assegnati al codice Ph corrispondente. Per la microscopia in contrasto di fase, l'obbiettivo e il modulo PH posizionato nel percorso ottico devono avere codice identico. In caso contrario non si potrà ottenere l'effetto di fase.

■ Messa a fuoco e centramento

Assicurarsi di aver messo a fuoco e di aver centrato il phase turret condenser prima dell'uso. Impostare la torretta del condensatore nella posizione [A] per portare la posizione vuota nel percorso ottico, quindi seguire le istruzioni contenute nel paragrafo 5 "Messa a fuoco e centramento del condensatore".

■ STOP APERTURA

Il C-C Phase Turret Condenser ha solo il suo diaframma di apertura nella posizione [A]. Per questa ragione, nella microscopia a contrasto di fase, il diaframma sarà lasciato aperto.

■ OTTURATORE

Ruotare la torretta del condensatore nella posizione [C] per portare l'otturatore nel percorso ottico e bloccare la dia illuminazione. L'otturatore è utile quando si usa contemporaneamente la microscopia in epi fluorescenza e la icroscopia in contrasto di fase.

Quando si usa il condensatore universale per la microscopia in contrasto di fase

- Centrare correttamente il modulo PH e l'anello di fase nellio stesso modo adottato per il C-C Phase Contrast Condenser
- Aprire completamente il diaframma di apertura. Chiudendo il diaframma anulare può bloccare il modulo PH, disabilitando la microscopia in contrtasto di fase.

17 Funzioni utili (funzione MODE)

La funzione MODE permette il salvataggio degli stati di microscopia (posizione o stato delle unità motorizzate) nella memoria del microscopio e recuperarli in seguito mediante la semplice pressione di un bottone. Un singolo stato di microscopia viene memorizzato in un singolo MODE. Possono essere memorizzati fino a 8 stati MODE e ad essi può essere attribuito un nome compopsto da 4 caratteri massimo. E' possibile configurare i dispositivi motorizzati il cui stato debba essere memorizzato/recuperato in ogni MODE.

Tutte le operazioni relative alla funzione MODE sono eseguite sulla DS-L3: registrazione, memorizzazione e recupero.

Vedi capitolo 3 "19 Operazioni sulla DS-L3" – "19.1 Impostazione del microscopio – (5) Funzione MODE"

Dispositivi motorizzati il cui stato può essere memorizzato/recuperato con la funzione MODE

Dispositivo	Informazioni memorizzate
FL TURRET	Cubo filtro della torretta cubo epi fluorescnza motorizzata correntemente nel percorso ottico
FL [SHUTTER]	Stato aperto/chiuso dell'otturatore incorporato nella torretta cubo epi fluorescenza motorizzata
EPI SHUTTER	Stato aperto/chiuso dell'EPI otturatore motorizzato
DIA SHUTTER	Stato aperto/chiuso del DIA otturatore motorizzato
LAMP ADJ.	Luminosità della dia-illuminazone
LAMP	Accensione spengimento della lampada di diailluminazione
INTSL [SHUTTER]	Stato aperto/chiuso dell'otturatore incorporato nell'illuminatore HG a fibra precentrata motorizzato
INTENSILIGHT	Filtri ND motorizzati nell'illuminatore HG a fibra precentrata motorizzato

18 Cattura delle immagini

l'imagine può essere catturata usando una corpo camera DS montato sul tubo o sulla porta zoom.

Come unità di controllo camera DS è usata una DS-L3 o una DS-U3.

La DS-L3 per il controllo camera, è collegata al connettore USB o Ex-OUT sulla control box B del microscopio. La DS-U3 per il controllo camera è collegata al connettore Ex-OUT sulla control box B del microscopio.

Può essere collegata una sola camera.

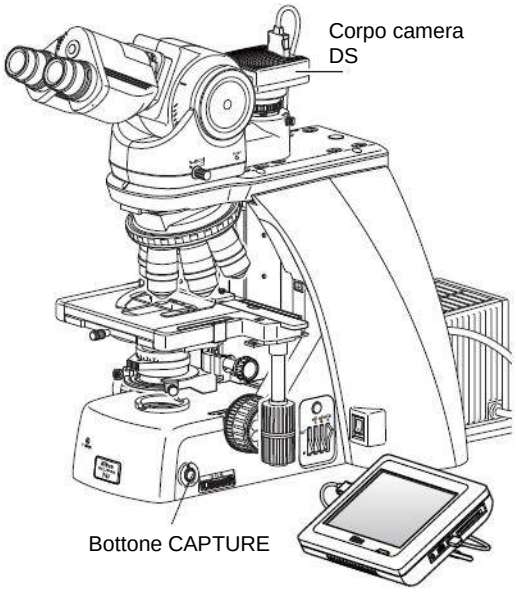
Quando si catturano le immagini mediante DSC occorre configurare la posizione e il produttore della camera connessa al DSC. La configurazione viene eseguita sulla DS-L3 (vedi "19 Operazioni con la DS-L3" – "19.1 Impostazione del microscopio – (2) Configurazione delle Device Connection Information").

Questa configurazione non è richiesta quando si catturano immagini usando una camera connessa alla DS-L3 controllata via cavo tramite USB.

L'acquisizione è attivata tramite il bottone CAPTURE.

Per default il bottone CAPTURE è impostato per acquisire l'immagine usando una camera connessa via USB.

♦ Operazioni con la DS-L3 (vedi "19.2Controllo el microscopio") ♦



Note sulla funzione [CAPTURE] usando il segnale di "trigger"

Quando il bottone CAPTURE è configurato per usare DSC, l'immagine può essere catturata non intenzionalmente quando si accende/spenge il microscopio. Per evitare questo, configurarlo per usare la porta USB.

Notare che solo la DS-L3 supporta la cattura via USB.

Fotomicroscopia

Di seguito è descritta la procedura di fotomicroscopia. Per i dettagli, compreso le impostazioni della camera, riferirsi anche ai manuali di istruzione forniti con la DS-L3 o con la DS-U3, o il manuale di istruzione del Ni Setup Tool che è il software per impostare/controllare il microscopio.

Per la DS-L3

E' richiesta almeno la seguente configurazione:

- La cartella per memorizzare i dati
- Il nome del file da salvare (oppure si selezionare "Auto")
- Formato e dimensione del file
- La data e la destinazione dei dati

(1) Aggiustare correttamente l'illuminazione del microscopio e aggiustare la messa a fuoco del campione.

(2) Montare la camera

■ **Porta DSC per tubo ergonomico binoculare**

Aggiustare la posizione di installazione del corpo camera basandosi sulla direzione di movimento del tavolino. Allentare la vite di blocco della guida di montaggio sull'attacco C e aggiustare la posizione e la rotazione della camera. Il movimento sul monitor deve essere in direzione opposta rispetto al tavolino. (Quando il tavolino si muove nella direzione da sinistra a destra, l'immagine sul monitor si muove da destra a sinistra). Dopo aver fatto gli aggiustamenti appropriati, serrare saldamente le viti.

■ **Porta DSC zoom per tubo quadroculare**

Allineare la spina di posizionamento della camera DS con la scanalatura sull'attaccio C della porta zoom e serrare la vite di fissaggio della camera.

(3) Mettere a fuoco l'immagine

Se l'immagine vista attraverso gli oculari appare a fuoco ma l'immagine sul monitor non è a fuoco:

■ **Porta DSC per tubo ergonomico binoculare**

Ruotare l'anello di messa a fuoco fine della camera sull'attacco C fino a quando l'immagine sul monitor non è a fuoco. Quindi ruotare le viti destra e sinistra di centramento camera per allineare l'immagine vista attraverso gli oculari con l'immagine sul monitor.

■ **Porta DSC zoom per tubo quadroculare**

Aggiustare la posizione delle lenti interne, dal retro della porta zoom usando una chiave esagonale, per mettere a fuoco.

Per tutte e due le porte, tali situazioni di fuori fuoco possono indicare anche un non corretto aggiustamento diottrico. Assicurarsi di aver fatto l'aggiustamento diottrico. (Vedi capitolo 3 "4 Aggiustamento diottrico").

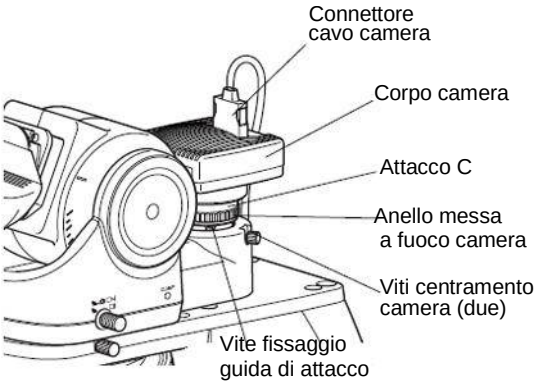
(4) Selezionare il modo camera scena adatto al metodo di microscopia.

(5) Aggiustare il bilanciamento del bianco della camera

Per aggiustare il bilanciamento del bianco, premere il bottone WB mentre si cattura un'immagine della sezione trasparente della slide del campione. (Per la fotomicroscopia in fluorescenza si raccomanda di aggiustare il bilanciamento del bianco in condizioni di normale microscopia in campo chiaro prima di acquisire le immagini).

Filtro NCB

La cassetta filtro dell'Ni-U è equipaggiata con un filtro NCB per la conversione della temperatura colore.



Aggiustamento della posizione della camera connessa alla porta DSC per tubo ergonomico binoculare

Messa a fuoco dell'immagine nella porta DSC zoom per tubo quadroculare.

(6) Allineare il campione.

(7) Riaggiustare il fuoco sul target.

(8) Aggiuistare la luminosità dell'immagine usando la funzione di compensazione esposizione.

(9) Controllare l'immagine usando il bottone "Freeze".

(10) Se l'immagine è accettabile, premere il bottone CAPTURE per salvare l'immagine.

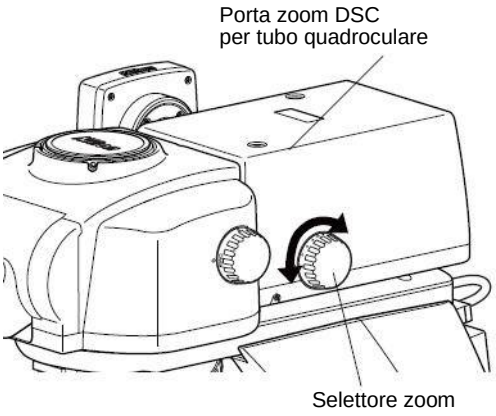
(Per i dettagli, riferirsi al manuale di istruzione fornito con la camera).

Numero di immagini catturate

La seriografia non è disponibile poiché il bottone CAPTURE è progettato per catturare solo un'immagine.

Zoom

E' possibile la cattura di immagini zoomate montando la camera sulla porta zoom. Lo zoom si esegue ruotando l'apposito selettore situato sulla destra della porta zoom. Il selettore è graduato con incrementi di 0.2x . Usare queste graduazioni come riferimento quando si fanno gli aggiustamenti. Il selettore presenta un "click" agli ingrandimenti 0.6x, 1x, 1.5x e 2x.



Zoom

I "click" possono essere abilitati o disabilitati. Ruotando e premendo la vite di impegno a testa esagonale, con l'indicazione NO CLICK posta sul fondo, nella direzione indicata in figura si rimuove il "click" del bottone quando si commutano gli ingrandimenti. Impostare lo switch in questa posizione quando si desidera eliminare le leggere vibrazioni indotte dall'azione del "click".

Disabilitazione del click durante la selezione dell'ingrandimento zoom

Limitazione del range dello zoom

Notare che il range dello zoom può essere limitato se si usa una camera DS costruita da altri produttori e ciò dipende dalle condizioni di acquisizione o dal tipo di camera.

Caduta di luce al bordo nella porta zoom

- Quando si esegue una microscopia in campo chiaro attaccando il tubo direttamente al braccio, l'ingrandimento zoom di 0.6x con obbiettivi a basso ingrandimento può provocare caduta di luce alla periferia.
- Quando si esegue una microscopia in campo chiaro mettendo due torrette cubo epifluorescenza su due livelli, l'ingrandimento zoom di 0.6x con obbiettivi a basso ingrandimento può provocare caduta di luce alla periferia
- Quando si esegue una microscopia in campo chiaro mettendo due torrette cubo epifluorescenza su due livelli, l'ingrandimento zoom di 0.6x con obbiettivi di ingrandimento da 10x a 40x può provocare caduta di luce alla periferia

Suggerimenti per l'impostazione del microscopio per la fotomicroscopia

■ Regolazione dell'intensità della luce

Voltaggio della lampada: quando la riproduzione accurata del colore è critica, ruotare il bottone di controllo luminosità nella posizione , portare nel percorso ottico il filtro NCB11 e usare i filtri ND per regolare la luminosità.

Filtro: all'occorrenza montare un filtro di compensazione del colore, disponibile in commercio, sulla lente di campo sulla base del microscopio.

■ Regolazione del condensatore

- Mettere a fuoco e centrare sempre il condensatore.
- Per la microscopia a contrasto di interferenza differenziale, allineare l'orientamento del polarizzatore e dfell'analizzatore
- Per la microscopia in contrasto di fase, centrare il diaframma anulare.
- Il diaframma di apertura deve essere di norma aggiustato dal 70 all'80% dell'apertura numerica dell'obbiettivo.

■ Conferma del range fotomicrografico

L'immagine sul monitor rappresenta il range fotomicrografico

■ Conferma della messa a fuoco

Controllare la messa a fuoco sia attraverso gli oculari sia sul monitor. Se le posizioni di fuoco delle due immagini differiscono, regolare l'anello di messa a fuoco fine della camera sulla porta di attacco della camera.

■ Regolazioni per evitare l'ingresso di luce indesiderata

Diaframma di campo: impostare il diaframma in una posizione leggermente più ampia dell'area mostrata sul monitor.

Oculare: coprire l'oculare con una pezzo di stoffa o qualcosa di simile.

■ Protezione delle immagini fluorescenti dalla decolorazione

La fluorescenza dei campioni può attenuarsi. Per evitare questo procedere come segue:

Usare una combinazione del sistema ottico più luminosa

Anche se l'ingrandimento fuori tutto è lo stesso sul monitor, la combinazione dell'obbiettivo e dello zoom della camera possono dare delle variazioni significative sul tempo di esposizione. Nkon raccomanda di incrementare l'ingrandimento dell'obbiettivo piuttosto che quello dello zoom. (Generalmente, l'apertura numerica dell'obbiettivo cresce con l'ingrandimento. Tanto maggiore è l'apertura numerica tanto più luminosa risulterà l'immagine).

Aggiustare la luce di eccitazione

Una luce di eccitazione eccessivamente brillante accelererà la decolorazione del campione, rendendo più difficoltosa l'acquisizione di immagini fluorescenti adeguate. Inserire i filtri ND nel percorso ottico per regolare la luminosità.

Campione

La fotomicrografia di parti del campione con fluorescenza attenuata richiede tempi di esposizione prolungati e si hanno colori scadenti e bassa qualità delle immagini. Spostare il campione per ottenere immagini da una zona del campione "fresca" non esposta in precedenza alla luce di eccitazione. Per avere i migliori risultati usare il metodo del contrasto di fase per selezionare una zona del campione per la fotomicrografia e quindi passare al metodo in fluorescenza per catturare le immagini.

■ Regolazione della luminosità dell'immagine sul monitor

Quando si osservano immagini catturate dalla camera e visualizzate sul monitor, è possibile regolarne la luminosità variando i parametri di regolazione della camera come il modo display, il modo di esposizione, il modo fotometria, la compensazione dell'esposizione e l'aggiustamento del livello dell'immagine.

Vedere il manuale di istruzione fornito con la DS-U3, DS-L3 o l' Ni Setup Tool del software di impostazione/controllo del microscopio.

19 Operazioni con la DS-L3

19.1 Impostazione del microscopio

Quando ci sono delle unità motorizzate installate sul microscopio per eseguire la microscopia motorizzata, si usa la DS-L3 per inserire le informazioni circa gli elementi ottici e per configurare le impostazioni circa le operazioni motorizzate. Per maggiori informazioni, vedere il manuale di istruzione “Controllo del microscopio” fornito con la DS-L3.

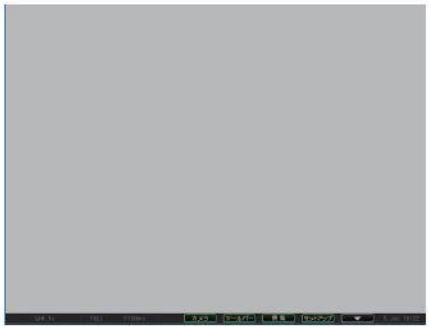
Schermo della DS-L3

Le schermate della Ds-L3 variano in funzione della configurazione e della impostazione del microscopio. I bottoni le cui funzioni non possono essere configurate sono presentati in grigio e sono disabilitati.

1 **Apertura della schermata principale per il controllo del microscopio**

Quando viene accesa la DS-L3, viene visualizzata inizialmente la schermata per il controllo della camera. Premendo il bottone [▼] si apre la schermata principale per il controllo del microscopio.

Schermata principale per controllo camera



Bottone [▼]

Schermata principale per controllo microscopio

Selezionare il tab [M.SETUP] per passare alla schermata [SETUP MENU]

2 **Apertura della schermata [SETUP MENU]**

Schermata [SETUP MENU]

Selezione del menu setup

3 **Selezionare un menu di setup**

Nella schermata [SETUP MENU], premere il bottone del menu desiderato:

[COMPONENTS] → **(1) Imposta le informazioni di installazione degli elementi ottici.**
[CONNECTION] → **(2) Configura le informazioni per la connessione del dispositivo.**
[BUTTON FUNC] → **(3) Configura le funzioni del bottone.**
[MOVEMENT] → **(4) Configura le impostazioni relative al movimento.**
[MODE] → **(5) Configura la funzione MODE.**
[UTILITY] → **(6) Configura le altre funzioni.**
[MAINTENANCE] → **(7) Manutenzione.**

4 **Le seguenti descrizioni sono delle reali procedure di configurazione. Vedi da (1) a (7).**

Salvamento della configurazione

Dopo aver completato le impostazioni, assicurarsi di premere il bottone [SAVE] sulla schermata [SETUP MENU] per salvare le impostazioni effettuate. Se la DS-L3 viene spenta senza salvare le impostazioni, saranno ripristinati i precedenti valori. Per maggiori informazioni vedere il capitolo 6 “1 Salvataggio delle impostazioni” nel manuale di istruzioni “Controllo del microscopio” per la DS-L3.

Salvataggio della configurazione

(1) Impostazione delle informazioni di installazione degli elementi ottici (vedi DS-L3 Capitolo 6, “2 Configurazione installazione elementi ottici”

Configura gli elementi ottici che si usano per le seguenti unità motorizzate.

<Impostazioni di fabbrica>

Non è configurato niente. Per la torretta cubo epifluorescenza motorizzata/intelligente, solo l’indirizzo 1 può essere configurato come [OPEN].

Le icone dei dispositivi nella parte alta dello schermo (da sinistra a destra) sono:

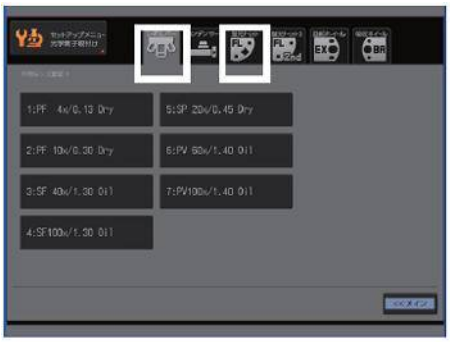
- Portaobbiettivi motorizzato/portaobbiettivi intelligente: configura gli obbiettivi
- Condensatore motorizzato: non disponibile per Ni-U
- Torretta cubo filtro motorizzata/intelligente (1^ passo): configura il cubo filtro.
- Torretta cubo filtro motorizzata/intelligente (2^ passo): non disponibile per Ni-U
- Disco filtro eccitazione motorizzato: non disponibile per Ni-U
- Disco filtro barriera motorizzato: non disponibile per Ni-U

Premere il bottone dell’icona relativa al dispositivo, premere il bottone dell’indirizzo per l’elemento ottico e selezionare l’elemento ottico dalla lista degli elementi registrati.

Quando un elemento ottico desiderato non compare nella lista, tenere presente che è possibile registrare fino a dieci informazioni addizionali di elementi ottici premendo il bottone [OPTIONAL]. La schermata guida l’utente nella esecuzione delle operazioni. Quando si cambia l’installazione degli elementi ottici, configurarli seguendo la stessa procedura.

Per qualsiasi dispositivo, le informazioni riguardanti l’elemento ottico possono essere configurate nello stesso modo.

[M. SETUP → [COMPONENTS]



Selezione di un dispositivo

Esempio: portaobbiettivo motorizzato, indirizzo 1

Selezione dell’obbiettivo

(2) Configurazione delle informazioni di connessione del dispositivo

(2-1) Connessione della camera digitale

(Vedere DS-L3 capitolo 6 “3.1 Configurazione della connessione della camera digitale”)

Eseguire questa configurazione quando all’unità principale è connessa, mediante un cavo trigger, un’unità di controllo camera per catturare l’immagine con l’invio di un segnale trigger dal connettore DSC sull’unità principale.
Questa configurazione non è necessaria se si sta acquisendo dalla camera direttamente connessa alla DS-L3 premendo il bottone [CAPTURE] sullo schermo controllo camera della DS-L3.

<Impostazione di default>
NOT-CONNECTED

(2-2) Connessione dell’otturatore motorizzato

(Vedere DS-L3 capitolo 6 “3.3 Configurazione della connessione dell’otturatore motorizzato”)

Eseguire questa configurazione quando si cambia obbiettivo oppure quando si usa l’otturatore motorizzato in AUX (non EPI/DIA).

<Impostazione di default>

EPI SHUTTER: otturatore motorizzato, DIA SHUTTER: otturatore motorizzato DIA

(3) Configurazione dei bottoni funzione

(3-1) Bottone CAPTURE sul corpo principale dell'Ni-U

(Vedere DS-L3 capitolo 6 "4.2.3 Azionamento camera dal bottone CAPTURE")

La funzione del bottone CAPTURE sull'unità principale dell'Ni-U può essere cambiata.
Questa configurazione è richiesta quando si acquisisce l'immagine usando un segnale trigger generato premendo il bottone CAPTURE.

<Impostazione di default>
USB (cattura l'immagine inviando un comando di comunicazione dal connettore USB)

(3-2) Bottoni sulle schermate della DS-L3

(Vedere DS-L3 capitolo 6 "4.1.1 Cambiamento dei bottoni mostrati sulle schermate")

Il layout dei bottoni sulle schermate [MICROSCOPE CONTROL] e [CAM-MIC CONTROL] può essere personalizzato.
Nella schermata [MICROSCOPE CONTROL] si possono allocare fino a 15 bottoni e nelle schermate [CAM-MIC CONTROL] sono allocabili fino a 12 bottoni.

<Impostazione di default>
(vedere la figura a destra)

Schermata [MICROSCOPE CONTROL], default di fabbrica

Schermata [CAM-MIC CONTROL], default di fabbrica

(4) Configurazione delle impostazioni relative al movimento (vedi DS-L3 capitolo 6 “5 Configurazione del movimento dei dispositivi motorizzati”)

(4-1) NOSEPIECE REVERSE ROTATION

(Vedi DS-L3 capitolo 6 “5.4 Disabilitazione della rotazione inversa del portaobbiettivi”)

Poiché la profondità di fuoco dell’obbiettivo con basso ingrandimento è elevata, l’obbiettivo può trovarsi vicino al campione. Quando da questa situazione si commuta obbiettivo per passare ad un obbiettivo ad alto ingrandimento, l’estremità dell’obbiettivo può entrare in contatto col campione. Onde evitare questo è possibile disabilitare la rotazione dall’indirizzo 1 al prossimo indirizzo 6 (per i portaobbiettivi sestupli) oppure dall’indirizzo 1 al prossimo indirizzo 7 (per portaobbiettivi settupli).
Per eseguire questa configurazione deve essere installato il portaobbiettivo motorizzato.

<Impostazione di default>
“No rotation stop”

[SETUP MENU] → [MOVEMENT]

Configurazione della rotazione inversa del portaobbiettivi

(4-2) NOSEPIECE TOGGLE

(Vedi DS-L3 capitolo 6 **“**5.5 Configurazione della funzione “Toggle” (Commutazione fra due Obbiettivi)**”**

La funzione Toggle permette l’osservazione del campione commutando alternativamente fra due obbiettivi configurati in precedenza.
Per commutare fra questi due obbiettivi, usare i bottoni per la rotazione diretta/inversa dell’obbiettivo che si trovano sul microscopio o sull’”ergo controller”.
Possono essere configurati due paia di obbiettivi: “toggle pattern 1” e “toggle pattern 2”.
Per eseguire questa configurazione deve essere installato il portaobbiettivo motorizzato.

<Impostazione di default>
“Toggle operation OFF”

[SETUP MENU] → [MOVEMENT]

Specifica del toggle pattern e il paio di indirizzi del portaobbiettivo (obbiettivi).

(5) Configurazione della funzione MODE (vedi DS-L3 capitolo 5 “2 Configurazione della funzione MODE”)

Per usare la funzione MODE, “registrare” l’accessorio motorizzato come target di MODE, quindi “memorizzare” lo stato del dispositivo motorizzato registrato. Il MODE memorizzato può essere “caricato” nella schermata [MICROSCOPE CONTROL].

(5-1) Registrazione di un MODE (aggiungi/modifica/cancella)

(Vedere DS-L3 capitolo 5, “2.1 Registrazione/Variazione Dispositivi motorizzati target”)

(Vedere DS-L3 capitolo 5, “2.4 Cancellamento di un MODE”)

[SETUP MENU → [MODE]

<Impostazione di default>

Nome MODE da [MD1] a [MD8]: Non registrati

Registrazione del MODE
Specificazione di un numero MODE – Aggiungere/Modificare/Cancellare

Specificando un numero MODE si apre il sottomenu.
Il bottone [ADD] viene mostrato quando si registra per la prima volta e i bottoni [MODIFY] e [DELETE] vengono mostrati quando si aggiorna la registrazione. Digitare il nome MODE (fino a quattro caratteri alfanumerici) e specificare il dispositivo motorizzato target seguendo la guida sullo schermo.
Quando si preme il bottone [DELETE], il nome MODE cambia in [Empty].

(5-2) Salvataggio di un MODE

(Vedi DS-L3 capitolo 5, “2.2 Salvataggio/aggiornamento di un MODE (Stato dei Dispositivi Motorizzati)”)

Quando si termina la registrazione del MODE, il nome MODE registrato viene mostrato sul bottone “numero MODE” e il bottone [SAVE MODE] viene visualizzato sulla destra.
A questo punto, si agisce sul microscopio per ottenere lo stato desiderato e si preme il bottone [SAVE MODE]. Viene salvato lo stato corrente del microscopio per il dispositivo motorizzato registrato.

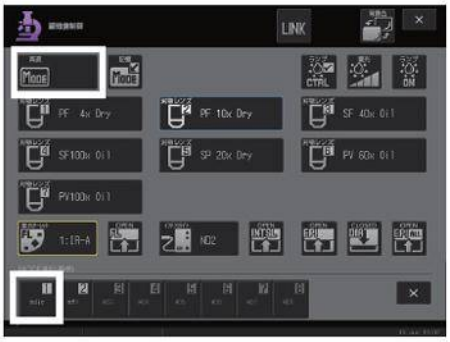
Salvataggio del MODE

MODE può essere salvato anche nella schermata [MICROSCOPE CONTROL]. Vedere la figura l punto (5-3). Premendo il bottone [SAVE MODE] si apre la sottoschermata. Si agisce sul microscopio per raggiungere lo stato desiderato e si preme il bottone [MODE NUMBER] appropriato. Viene salvato lo stato corrente del microscopio per il dispositivo motorizzato registrato.

(5-3) Caricamento di un MODE

(Vedere DS-L3 capitolo 5 “2.3 Caricamento di un MODE”)

Il caricamento di un MODE richiama il MODE salvato e viene eseguito nella schermata [MICROSCOPE CONTROL].
Premendo il bottone [LOAD MODE] si apre la sottoschermata che permette all’operatore di specificare il numero MODE da caricare.



Caricamento di un MODE
Specificare il MODE da caricare nella sottoschermata

(6) Configurazione di altre funzioni (vedi DS-L3 capitolo 6 “6 Configurazione altre funzioni”)

Nessuna funzione corrispondente nell’Ni-U

(7) Manutenzione

(7-1) FL TURRET DRIVE SPEED

(Vedere DS-L3 capitolo 6 “6.5 Configurazione della velocità di spostamento della torretta cubo epi fluorescenza)”)

Definisce la velocità di spostamento della torretta cubo epifluorescenza come HIGH o LOW.

Quando nel cubo filtro è usato uno specchio dicroico spesso, impostare la velocità di spostamento come LOW.

Per eseguire questa configurazione deve essere montata la torretta cubo epi fluorescenza.

<Impostazione di default>

“HIGH”

(7-2) RESET DEI DATI

(Vedere DS-L3 capitolo 6 “6.6 Ripristino delle impostazioni di default di fabbrica”)

Riporta le impostazioni della schermata [SETUP MENU] ai valori di fabbrica.

(7-3) VERSIONE DEL PROGRAMMA

E’ possibile controllare la versione del programma del sistema microscopio.

[M. SETUP] → [MAINTENANCE]

Configurazione impostazioni di manutenzione

19.2 Controllo del microscopio

Il microscopio può essere controllato tramite la DS-L3.

Per i dettagli riferirsi al “Capitolo 5 Singole operazioni” nel manuale di istruzioni “Controllo del microscopio” fornito con la Ds-L3.

(1) Operazioni su Ni-U controllabili da Ds-L3

Dispositivo	Operazione disponibile su DS-L3	Impostazioni richieste (Riferimenti al manuale della DS-L3)
Corpo principale di ECLIPSE Ni-U	ON/OFF e controllo luminosità della lampada del dia illuminatore	Nessuna
	Uscita del segnale trigger di cattura dal connettore DSC	Informazioni sulla camera collegata al connettore DSC (Vedi capitolo 6, paragrafo 3.1 “ Configurazione della connessione della camera digitale”)
Portaobiettivi settuplo motorizzato NI-N7-E	Commutazione obbiettivo	Informazioni sugli obbiettivi montati (Vedi capitolo 6, “2.1 Configurazione delle informazioni dell’obbiettivo”)
Portaobiettivi DIC sestuplo motorizzato NI-ND6-E		
Portaobiettivi settuplo intelligente NI-N7-I	Rilevamento indirizzo del portaobbiettivi nel percorso ottico	
Portaobiettivi DIC sestuplo intelligente NI-ND6-I		
Torretta cubo epifluorescenza motorizzata NI-FLT6-E*1,*2	Commutazione del cubo filtro, apertura/chiusura dell’otturatore interno	Informazioni sul cubo filtro montato (vedi capitolo 6, “2.3 Configurazione delle informazioni sul cubo filtro”
Torretta cubo epifluorescenza intelligente NI-FLT6-I*1,*2	Rilevamento indirizzo della torretta nel percorso ottico	
Illuminatore a fibra precentrata HG motorizzato C-HGFIE	Commutazione dell’ ND incorporato, apertura/chiusura dell’otturatore incorporato.	Nessuna
Otturatore motorizzato NI-SH-E*2	Apertura/chiusura dell’otturatore motorizzato EPI/DIA/AUX	Nessuna

*1: La torretta cubo epifluorescenza motorizzata (o intelligente) non può essere usata nella disposizione su due livelli. Quando si usa su due livelli con la torretta cubo epifluorescenza manuale, montare la torretta motorizzata (o intelligente) in basso.

*2: Possono essere pilotati fino a due otturatori motorizzati.

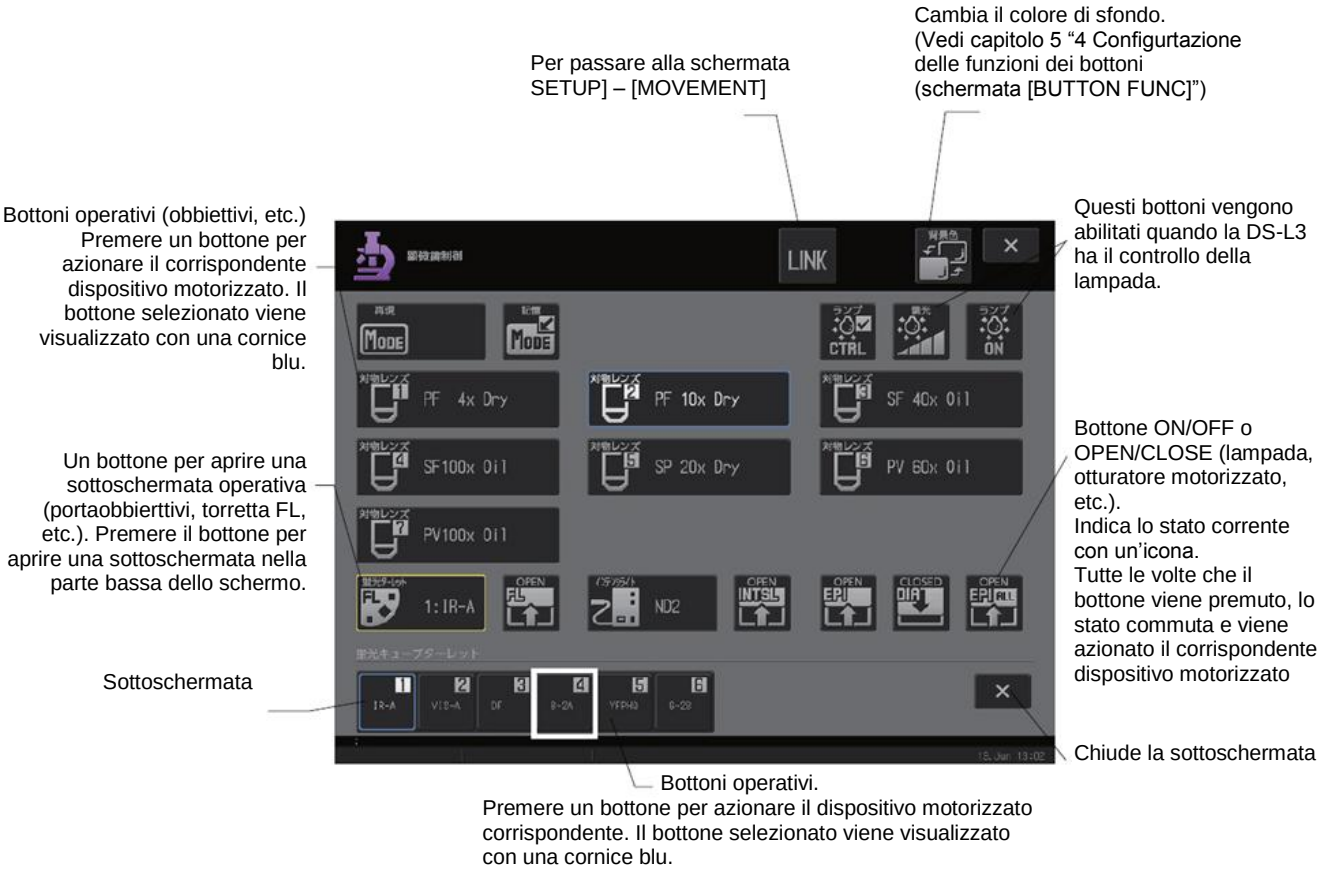
*3: Quando si cambia l’obbiettivo o si usa l’otturatore motorizzato in AUX (non EPI/DIA), vedere DS-L3, capitolo 6 “3.2 Configurazione dell’uso dell’otturatore motorizzato”.

(2) Bottone operativo sulla schermata [MICROSCOPE CONTROL]

Per controllare il microscopio dalla DS-L3, premere il bottone [MIC] o il bottone [CAM-MIC] nella schermata principale del controllo microscopio per aprire la schermata [MICROSCOPE CONTROL] o [CAM-MIC CONTROL]. E' possibile eseguire operazioni simili su ambedue le schermate; la descrizione seguente usa come esempio la schermata [MICROSCOPE CONTROL].

Nella schermata [MICROSCOPE CONTROL] sono mostrati i seguenti bottoni. Questa disposizione è un default di fabbrica. Se si vogliono usare delle funzioni non visibili, vedere "19.1 Impostazione del microscopio – (3) Configurazione delle funzioni bottone – (3.2) Bottoni sulle schermate della DS-L3" per rendere visibili i bottoni.

Schermata principale per il controllo del microscopio


Per passare alla schermata SETUP] – [MOVEMENT]
Cambia il colore di sfondo. (Vedi capitolo 5 "4 Configurtazione delle funzioni dei bottoni (schermata [BUTTON FUNC]")
Bottoni operativi (obbiettivi, etc.) Premere un bottone per azionare il corrispondente dispositivo motorizzato. Il bottone selezionato viene visualizzato con una cornice blu.
Questi bottoni vengono abilitati quando la DS-L3 ha il controllo della lampada.
Un bottone per aprire una sottoschermata operativa (portaobbierttivi, torretta FL, etc.). Premere il bottone per aprire una sottoschermata nella parte bassa dello schermo.
Bottone ON/OFF o OPEN/CLOSE (lampada, otturatore motorizzato, etc.). Indica lo stato corrente con un'icona. Tutte le volte che il bottone viene premuto, lo stato commuta e viene azionato il corrispondente dispositivo motorizzato
Sottoschermata
Chiude la sottoschermata
Bottoni operativi.
Premere un bottone per azionare il dispositivo motorizzato corrispondente. Il bottone selezionato viene visualizzato con una cornice blu.
LINK
MODE
CTRL
ON
PF 4x Dry
PF 10x Dry
SF 40x Oil
SF100x Oil
SP 20x Dry
PV 60x Oil
PV100x Oil
1:IR-A
ND2
OPEN
CLOSED

Esempio di sottoschermata con uno regolatore a cursore (regolazione lampada)

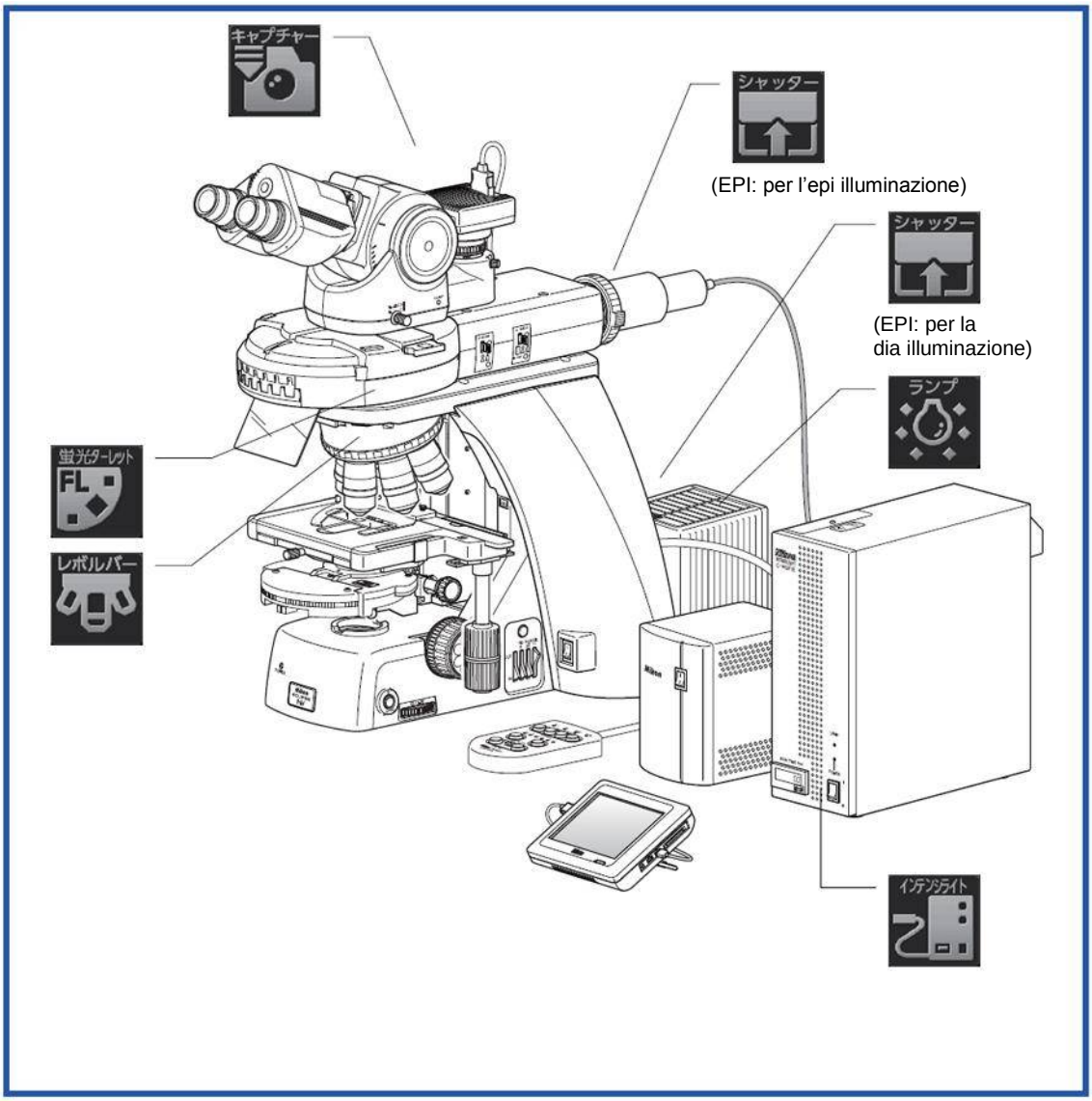
Cursore

Operazioni disponibili:

- Trascinare il cursore giallo dopo averlo premuto
- Pressione dei bottoni [◄] [►]
- Pressione sull'area a sinistra e a destra del cursore giallo (per un maggior movimento rispetto all'uso dei bottoni [◄] [►])

(3) Controllo dell'Ni-U usando i bottoni operativi

Premendo I bottoni operativi è possibile controllare le seguenti parti del Ni-U o degli accessori motorizzati.
Vedere la lista delle funzioni e la descrizione delle operazioni per ogni bottone.



Riassunto funzioni e operazioni relative ai bottoni operativi

Bottoni operativi		Funzione	Operazione Riferimento nel manuale di istruzione della DS-L3
 [NOSEPIECE]	 [Objective (Address)]	Commuta gli obbiettivi	Capitolo 5, “1.1 Commutazione degli obbiettivi (Portaobiettivi motorizzato)”.
 [FL TURRET]	 [FL CUBE (ADDRESS)]	Commuta il cubo filtro nella torretta cubo epi fluorescenza motorizzata (1° passo).	Capitolo 5, “1.4 Commutazione del cubo filtro (Torretta cubo epifluorescenza motorizzata)”.
	 [SHUTTER FL]	Apre/chiude l’otturatore incorporato nella torretta cubo epi fluorescenza (1° passo).	Capitolo 5, “1.5 Apertura / chiusura dell’otturatore incorporato nella torretta cubo epifluorescenza”.
 [INTSL]	 [INTSL (ND NO.)]	Commuta ND per l’illuminatore a fibra precentrata HG.	Capitolo 5, “1.12 Operazione dell’illuminatore a fibra precentrata (intensilight)”.
	 [SHUTTER INTSL]	Apre/chiude l’otturatore incorporato nell’illuminatore a fibra precentrata HG.	
 [LAMP]	 [LAMP CTRL]	Trasferisce il controllo della lampada di dia illuminazione fra il microscopio e la DFS-L3.	Capitolo 5, “1.14.1 Trasferimento del controllo della lampada/LED del dia illuminatore”.
	 [ADJ.]	Regola la luminosità della lampada di dia illuminazione.	Capitolo 5, “1.14.3 Regolazione della luminosità della lampada/LED del dia illuminatore”
	 [PHOTO]	Regola la lampada di dia illuminazione alla luminosità che offre la riproduzione del colore ottimale.	
	 [LAMP ON/OFF]	ON/OFF della lampada di diailluminazione.	Capitolo 5 “1.14.2 Accensione spengimento della lampada /LED del dia illuminatore”.

Bottoni operativi		Funzione	Operazione Riferimento nel manuale di istruzione della DS-L3
[SHUTTER]	 [SHUTTER EPI ALL]	Apre/chiude l'otturatore incorporato nell'illuminatore a fibra precentrata HG, l'otturatore EPI motorizzato e l'otturatore incorporato nella torretta cubo epifluorescenza	Capitolo 5, "1.5 Apertura/chiusura di tutti gli otturatoriper la dia illuminazione".
	 [SHUTTER FL]	Apre/chiude l'otturatore motorizzato incorporato nella torretta cubo epifluorescenza. Equivalente al bottone [SHUTTER FL] nella sottoschermata del bottone [FL TURRET].	Capitolo 5, "1.5 Apertura/chiusura dell'otturatore motorizzato incorporato nella torretta cubo epifluorescenza".
	 [SHUTTER INTSL]	Apre/chiude l'otturatore incorporato nell'illuminatore a fibra precentrata HG. Equivalente al bottone [SHUTTER INTSL] nella sottoschermata [INTSL]	Capitolo 5, "1.12.1 Apertura / chiusura dell'otturatore motorizzato incorporato nell'illuminatore a fibra precentrata HG"
	 [SHUTTER EPI]	Apre/chiude l'otturatore EPI	Capitolo 5, "1.16 Apertura / chiusura dell'otturatore motorizzato EPI/DIA/AUX"
	 [SHUTTER DIA]	Apre/chiude l'otturatore DIA	
	 [SHUTTER AUX]	Apre/chiude l'otturatore AUX	
[CAPTURE]	 [CAPTURE FRONT]	Invia il segnale trigger di cattura alla camera digitale collegata al tubo adattatore.	Capitolo 5, "1.17 Invio dal microscopio del segnale trigger di cattura".
	 [CAPTURE LEFT]	Invia il segnale trigger di cattura alla camera digitale collegata alla porta zoom DSC.	
	 [CAPTURE AUX]	Invia il segnale trigger di cattura alla camera digitale nella posizione AUX..	
 [SAVE]		Salva lo stato di microscopia corrente come un MODE.	Capitolo 5, "2.2 Salvataggio / aggiornamento di un MODE (Stato dei dispositivi motorizzati)".
 [LOAD]	 [LOAD (MODE number)]	Carica un MODE salvato.	Capitolo 5, "2.3 caricamento di un MODE".
 [COLOR]		Cambia il colore di sfondo per la DS-L3.	Capitolo 5, "4 cambio del colore di sfondo della schermata [MICROSCOPE CONTROL]".